

**PENGARUH GEL NANO KALSIUM DAN MIKRO KALSIUM DARI
EKSTRAK CANGKANG TELUR BEBEK (*Anas platyrhynchos domesticus*)
TERHADAP KEKERASAN ENAMEL GIGI : Studi (*In vitro*)**

Karya Tulis Ilmiah

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi



Oleh

Arika Indah Marhayu Puspasari

31101800015

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

2021



KARYA TULIS ILMIAH

PENGARUH GEL NANO KALSIUM DAN MIKRO KALSIUM DARI EKSTRAK CANGKANG TELUR BEBEK (*Anas platyrhynchos domesticus*) TERHADAP KEKERASAN ENAMEL GIGI : STUDI (*IN VITRO*)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh
Arika Indah Marhayu Puspasari
31101800015

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal 10 Januari 2022
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Ketua Tim Penguji

drg. Rizki Amalina, M.Si

Anggota Tim Penguji I

drg. Prima Agusmawanti, Sp.KGA

Anggota Tim Penguji II

drg. Benni Benyamin, M.Biotech

Semarang, 10 AUG 2022

Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



Dr. drg. Yayun Siti Rochmah, Sp.BM
NIK.210100058

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Arika Indah Marhayu Puspasari

NIM : 31101800015

Dengan ini saya nyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul :

**“PENGARUH GEL NANO KALSIUM DAN MIKRO KALSIUM DARI
EKSTRAK CANGKANG TELUR BEBEK (*Anas platyrhynchos domesticus*)
TERHADAP KEKERASAN ENAMEL GIGI : Studi (*In vitro*)”**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 10 Maret 2022

Yang menyatakan



Arika Indah Marhayu P.

PERNYATAAN PUBLIKASI KARYA TULIS ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Arika Indah Marhayu Puspasari

NIM : 31101800015

Pembimbing : drg. Prima Agusmawanti, Sp.KGA

Fakultas : Kedokteran Gigi

NIK : 211010015

Judul : PENGARUH GEL NANO KALSIUM DAN MIKRO KALSIUM DARI EKSTRAK CANGKANG TELUR BEBEK (*Anas platyrhynchos domesticus*) TERHADAP KEKERASAN ENAMEL GIGI : Studi (*In vitro*)

Menyatakan bahwa memohon untuk TIDAK dipublikasi skripsi ini untuk seminar Universitas Islam Sultan Agung Semarang dikarenakan skripsi tersebut akan dipublikasi bersama jurnal lain bersama pembimbing yang mengampu.

Mengetahui Semarang, 10 Maret 2022

Pembimbing I



drg. Prima Agusmawanti, Sp.KGA

NIK. 211010015



Arika Indah Marhayu Puspasari

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto:

Jangan memikirkan sesuatu yang belum terjadi, tetapi pikirkanlah hal baik yang

kita asumsikan dan kita percayai,

Karena apa yang kita pikirkan dan rasakan akan menjadi timbal balik dari

persepsi yang kita ambil



Semua pihak yang membantu dalam terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul **Pengaruh Gel Nano Kalsium dan Mikro Kalsium dari Ekstrak Cangkang Telur Bebek (*Anas Platyrrhynchos Domesticus*) terhadap Kekerasan Enamel Gigi : Studi (*In Vitro*)**. Sholawat serta salam senantiasa tercurah kepada Baginda Nabi Muhammad SAW serta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak akan terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan rasa terimakasih yang tulus dengan penuh rasa hormat kepada:

1. drg. Yayun Siti Rochmah, Sp.BM selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung.
2. drg. Prima Agusmawanti, Sp.KGA selaku dosen pembimbing I dan drg. Benni Benyamin, M.Biotech selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dari awal hingga selesainya penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini dengan penuh kesabaran dan tidak lupa ucapan terimakasih dari penulis atas waktu luang yang telah diberikan selama bimbingan.
3. Drg. Rizki Amalina, M.Si selaku penguji yang sudah mengarahkan dan memberi saran yang sangat berarti dan membantu serta waktu luang yang telah diberikan untuk menguji.

4. Orang tua saya, Bapak Misran dan Ibu Muji Amriyah Rahayu yang penuh kesabaran mendidik dan selalu memberikan motivasi penulis untuk menjadi seseorang yang tahan banting, terus belajar, memberikan doa, dan dukungan dalam bentuk materiil maupun non materiil.
5. Seluruh dosen dan staf pengajar di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung yang telah membimbing dan membantu selama perkuliahan.
6. Kakak laki – laki penulis dr.Baruna Eka Atmaja yang selalu memberikan dukungan untuk penelitian ini dan saudara kembar penulis Arinda Indah Marhayu Puspita yang sedang berjuang meraih gelar S.ked dalam waktu dekat ini, terimakasih sudah selalu memberi semangat dan mengingatkan penulis tentang rasa syukur karena memiliki kalian di kehidupan ini.
7. Teman seperjuangan KTI Cindya Arvanita, Shofa Salsabila, Dirzka Ifo Reformisa dan teman – teman angkatan 2018 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang selalu membantu selama ini.
8. Para sahabat Rosida Intan Andica, Adetya Denti Wijayakusumaningtyas, Putri Azza Farhanah, Sri Nur Astuti, Salma Hasni Amalia, Ika Taukhida, Inezia Paula, Elok Fajar Arisanti, Iqraini Balqis, Nabila Alifia Nugroho dan semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah.

Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat menjadi bahan informasi yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran gigi.

Wassalamu'alaikumWr.Wb

Semarang, 10 Januari 2022



DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Surat Pernyataan Keaslian.....	iii
Pernyataan Publikasi Karya Tulis Ilmiah	iii
Motto dan Persembahan	v
Prakata	vi
Daftar Isi	ix
Daftar Singkatan	xii
Daftar Gambar	xiii
Daftar Tabel.....	xiv
Daftar Lampiran	xv
ABSTRAK	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	18
1.1 Latar Belakang	18
1.2 Rumusan Masalah.....	22
1.3 Tujuan Penelitian	22
1.3.1 Tujuan umum.....	22
1.3.2 Tujuan khusus.....	22
1.4 Manfaat Penelitian	23
1.4.1 Manfaat teoritis.....	23
1.4.2 Manfaat Terapan	23
1.5 Orisinalitas Penelitian	24
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	25
2.1 Landasan Teori.....	25
2.1.1 Struktur enamel.....	25
2.1.2 Kandungan enamel	26
2.1.3 Demineralisasi	27
2.1.4 Remineralisasi.....	28
2.1.5 Mikro Kalsium dan Nano Kalsium.....	31
2.1.6 CPP-ACP	34

2.1.7 Cangkang Telur bebek (<i>Anas platyrhynchos domesticus</i>).....	35
2.1.8 Vickers microhardness tester (HNV-M3, Shimadzu, Japan).....	37
2.2 Kerangka Teori	39
2.3 Kerangka Konsep	40
2.4 Hipotesis	40
BAB 3 METODE PENELITIAN	41
3.1 Jenis Penelitian	41
3.2 Rancangan Penelitian	41
3.3 Variabel Penelitian	41
3.3.1 Variabel terikat	41
3.3.2 Variabel Bebas	42
3.3.3 Variabel Terkendali	42
3.4 Definisi Operasional	42
3.4.1 Gel Nano Kalsium dari CTB (<i>Anas Platyrhynchos Domesticus</i>).....	42
3.4.2 Gel Mikro Kalsium dari CTB (<i>Anas Platyrhynchos Domesticus</i>).....	42
3.4.3 Kekerasan enamel	43
3.5 Sampel Penelitian	43
3.5.1 Teknik Sampel	43
3.5.2 Besar Sampel	43
3.6 Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi	44
3.6.1. Kriteria Inklusi.....	44
3.6.2. Kriteria Eksklusi	44
3.7 Instrumen Penelitian	45
3.7.1 Alat penelitian.....	45
3.7.2 Bahan penelitian	46
3.8 Cara Penelitian	47
a. Persiapan sampel/ Bahan coba	47
b. Pembuatan lesi demineralisasi.....	48
c. Pengukuran Kekerasan sebelum Perlakuan.....	49
d. Kalsinasi CTB (<i>Anas platyrhynchos domesticus</i>)	50
e. Rendemen HCl Sintesis NCTB &MCTB.....	51
f. Penentuan Kalsium dalam bubuk NCTB dan MCTB	52
g. Pengukuran SEM pada Bubuk NCTB dan MCTB.....	53
h. Pembuatan Gel NCTB dan MCTB.....	54

i. Perlakuan Terhadap Sampel	54
j. Pengukuran Kekerasan setelah perlakuan	55
3.9 Tempat dan Waktu	57
3.9.1 Tempat Penelitian	57
3.9.2 Waktu Penelitian.....	57
3.10 Analisis Data	58
3.11 Alur penelitian	59
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	60
4.1 Hasil Penelitian	60
4.1.1 Hasil data <i>Pre test</i> dan <i>Post test</i> kekerasan Gigi	60
4.1.2 Hasil Analisis Statistik.....	61
4.2 Pembahasan	63
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	68
5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN.....	74
Hasil Uji Turnitin.....	88



DAFTAR SINGKATAN

CaCl_2	: kalsium klorida
CaO	: kalsium oksida
CaCO_3	: kalsium karbonat
Ca(OH)_2	: kalsium hidroksida
CPP-ACP	: <i>Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate</i>
CEJ	: <i>Cemento Enamel Junction</i>
CTB	: cangkang telur bebek
CMC-Na	: <i>Carboxyl Methyl Cellulose-Natrium</i>
gf	: <i>gram-force</i>
GMCTB	: Gel mikro kalsium cangkang telur bebek
GNCTB	: Gel nano kalsium cangkang telur bebek
HBSS	: <i>Hanks Balanced Salt Solution</i>
HCl	: Asam klorida
M	: Molal
NaOH	: natrium hidroksida
SEM	: <i>Scanning Electron Microscopy</i>
VHN	: <i>Vicker Hardness Number</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.8.1	Sampel ditanam pada akrilik	48
Gambar 3.8.3	Pre tes kekerasan	49
Gambar 3.8.9	Penyimpanan sampel.....	54
Gambar 3.8.10	Post tes kekerasan	57
Gambar 4.1.1	Rata-Rata <i>Pre test</i> dan <i>Post test</i>	61
Gambar 6.1	Cangkang telur bebek bersih	82
Gambar 6.2	Penanaman sampel pada Akrilik	82
Gambar 6.3	Sampel sesudah di etsa.....	82
Gambar 6.4	Ekstraksi dengan HCl	82
Gambar 6.5	Larutkan dengan NaOH	82
Gambar 6.6.	Uji SEM bubuk NCTB dan MCTB.....	83
Gambar 6.7	Penacampuran NaCMC.....	83
Gambar 6.8	GNCTB dan GMCTB	84
Gambar 6.9	Pre test kekerasan	84
Gambar 7	Aplikasi gel nano kalsium dan mikro kalsium.....	84
Gambar 7.1	Penyimpanan dalam inkubator.....	85
Gambar 7.2	Post test kekerasan	85
Gambar 7.3	Vickers microhardness tester pre tes dan post tes GNCTB	86
Gambar 7.4	Vickers microhardness tester pre tes dan post tes GMCTB.....	86
Gambar 7.5	Vickers microhardness tester pre tes dan post test CPP-ACP... ..	86
Gambar 2.1	Kristal hidroksiapatit.....	87
Gambar 2.2	Pola prisma enamel	87
Gambar 2.1.8	Vickers microhardness tester	87
Gambar 3.8.2	Prinsip Kerja	87

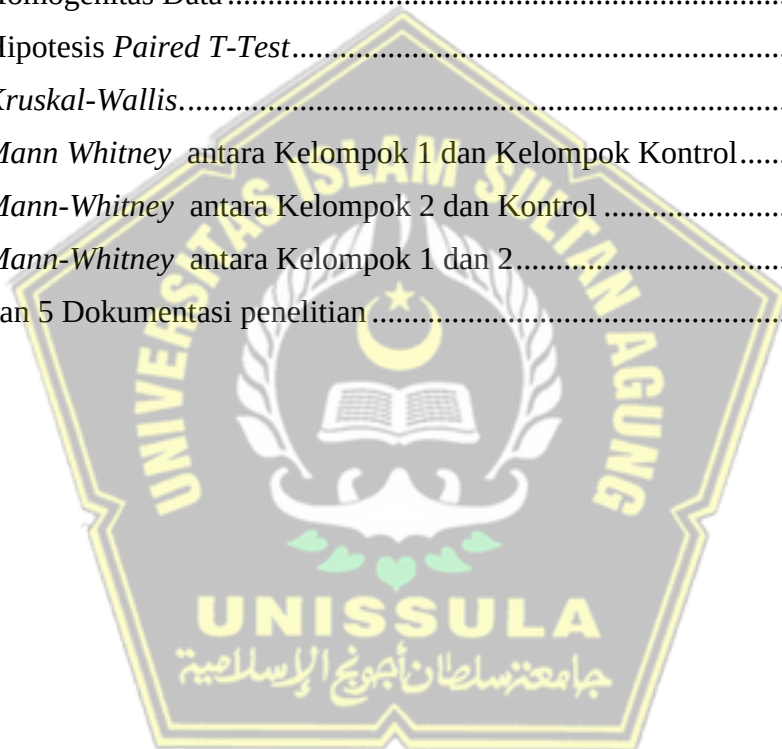
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.4 <i>Modifying Factors</i> Remineralisasi	29
Tabel 2.1.5 Metode Sintesis Nano kalsium.....	33
Tabel 4.1.1.1 Rata-Rata dan Selisih Rata-Rata	60
Tabel 4.1.2.1 Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	61
Tabel 4.1.2.2 uji Homogenitas	62
Tabel 4.1.2.3 Uji Hipotesis <i>Paired T-Test</i>	62
Tabel 4.1.2.4 Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	62
Tabel 4.1.2.5 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> Ketiga Kelompok.....	63



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Ethical Clearance	74
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian.....	75
Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian	77
Lampiran 4. Hasil Analisis Data	78
Uji <i>Descriptive Statistics</i>	78
Uji Normalitas Data.....	78
Uji Homogenitas Data	78
Uji Hipotesis <i>Paired T-Test</i>	79
Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	79
Uji <i>Mann Whitney</i> antara Kelompok 1 dan Kelompok Kontrol.....	80
Uji <i>Mann-Whitney</i> antara Kelompok 2 dan Kontrol	80
Uji <i>Mann-Whitney</i> antara Kelompok 1 dan 2.....	81
Lampiran 5 Dokumentasi penelitian	82



ABSTRAK

Karies gigi adalah masalah kronis yang selalu terjadi di seluruh dunia tanpa batasan usia yang ditandai dengan penurunan pH mencapai 5,5. Penurunan ini menyebabkan lingkungan asam dan keseimbangan akan terganggu serta ion kalsium akan lebih banyak larut dari pada yang keluar dari saliva sehingga menyebabkan penurunan kekerasan enamel. Salah satu cara untuk meningkatkan kekerasan adalah melalui penambahan ion kalsium. Persentase kalsium karbonat dalam cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) sebesar 91-94% sehingga menjadi bahan pilihan untuk meningkatkan kadar ion Ca^{2+} . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aplikasi gel nano kalsium dan gel mikro kalsium ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) terhadap kekerasan enamel gigi.

Penelitian ini merupakan penelitian *true experiment* laboratoris in vitro dengan *pretest posttest with control group*, dibagi 3 kelompok yaitu kelompok 1 (GNCTB 20%), kelompok 2 (GMCTB 20%), dan kelompok kontrol (pasta CPP-ACP). Data dianalisis dengan uji *Paired T-Test* dan *kruskal wallis* dengan derajat signifikansi 5%. Kelompok 1 memiliki rata-rata kekerasan paling tinggi yaitu 289,22 VHN, kelompok 2 sebesar 219,37 VHN, dan kelompok kontrol sebesar 195,47 VHN.

Hasil uji *Paired T-Test* ketiga kelompok antara *pre test* dan *post test* $p=0,000$. Hasil tersebut menunjukkan GNCTB 20% dan GMCTB 20% memberikan pengaruh terhadap kekerasan enamel gigi. Hasil uji *kruskal wallis* ketiga kelompok *post test* $p=0,061$. Hasil tersebut menunjukkan tidak ada perbedaan kekerasan enamel yang signifikan antara kelompok 1 (GNCTB 20%), kelompok 2 (GMCTB 20%), dan kelompok kontrol (pasta CPP-ACP).

Kata kunci : gel ekstrak cangkang telur bebek, nano kalsium, mikro kalsium, kekerasan enamel, *Vickers microhardness tester*.

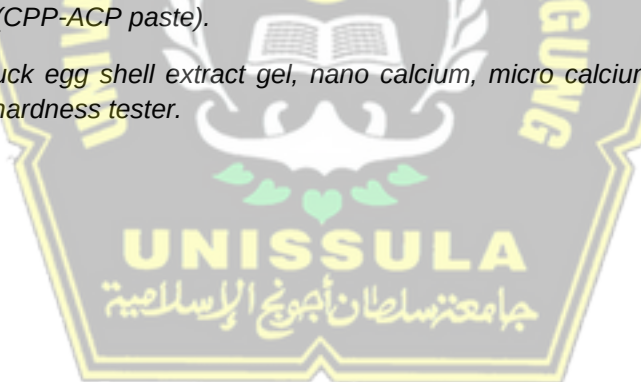
ABSTRACT

Dental caries is a chronic problem that always occurs throughout the world regardless of age, which is characterized by a decrease in pH reaching 5.5. This decrease causes an acidic environment and balance will be disturbed and more calcium ions will dissolve than those that come out of saliva, causing a decrease in enamel hardness. One way to increase the hardness is through the addition of calcium ions. The percentage of calcium carbonate in duck egg shells (*Anas platyrhynchos domesticus*) is 91-94%, so it becomes the material of choice to increase the level of Ca^{2+} ions. This study aims to determine the effect of the application of calcium nano gel and micro calcium gel extract of duck eggshell extract (*Anas platyrhynchos domesticus*) on the hardness of tooth enamel.

This study is an *in vitro* true laboratory experiment with pretest posttest with control group, divided into 3 groups, namely group 1 (GNCTB 20%), group 2 (GMCTB 20%), and control group (CPP-ACP paste). Data were analyzed by Paired T-Test and Kruskal Wallis test with a significance degree of 5%. Group 1 had the highest average violence, which was 289.22 VHN, group 2 was 219.37 VHN, and the control group was 195.47 VHN.

The results of the Paired T-Test of the three groups between the pre-test and post-test $p=0.000$. These results show that GNCTB 20% and GMCTB 20% have an effect on the hardness of tooth enamel. The results of the Kruskal Wallis test for the three post-test groups were $p=0.061$. The results showed that there was no significant difference in enamel hardness between group 1 (GNCTB 20%), group 2 (GMCTB 20%), and the control group (CPP-ACP paste).

Keywords : duck egg shell extract gel, nano calcium, micro calcium, enamel hardness, Vickers microhardness tester.



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies gigi adalah penyakit kronis yang selalu terjadi di seluruh dunia pada semua kelompok usia dari bayi, orang dewasa hingga lanjut usia. Meskipun ada kemajuan tindakan pencegahan seperti menggunakan fluoride, prevalensi karies masih tetap tinggi karena makanan yang mengandung gula menjadi faktor resiko untuk terjadi karies gigi (Moynihan, 2016). Selain itu, salah satu mineral gigi yaitu kalsium memiliki kadar yang rendah sehingga kepadatan dan kualitas gigi berkurang dan gigi beresiko terjadi karies. Kandungan kalsium pada jaringan keras yaitu tulang dan gigi sebanyak 99% akan memelihara fungsi gigi dengan membentuk kristal HA [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$] untuk memberikan kekerasan pada gigi (Hartami *et al.*, 2019).

Enamel gigi mengandung 92-96% komponen anorganik, 1-2% organik dan 3-4% air (Qamar *et al.*, 2017). Enamel memiliki sifat permeabel dan struktur yang keras (Syahrial *et al.*, 2016). Enamel bereaksi terhadap asam dari makanan manis dan bakteri di rongga mulut melalui demineralisasi kimiawi. Lingkungan asam dapat mendukung difusi asam masuk dan kandungan mineral enamel keluar sehingga terjadi kehilangan ion mineral dari kristal HA pada jaringan keras seperti enamel, dentin, sementum, dan tulang. Demineralisasi ini adalah proses *reversible* karena kristal HA yang hilang dapat kembali ke ukuran asli jika berada pada lingkungan mulut yang mendukung remineralisasi (Neel *et al.*, 2016).

Demineralisasi dapat mengurangi kekerasan enamel pada pH asam 5,5 dengan cara melarutkan mineral enamel gigi. Minuman dengan kandungan asam tinggi dapat mengikat ion Ca^{2+} sehingga HA terurai menjadi ion Ca^{2+} , PO_4^{3-} , dan OH^- . Jumlah ion Ca^{2+} yang larut harus seimbang dengan ion Ca^{2+} yang keluar dari saliva untuk diserap kembali oleh enamel gigi. Saliva selain mengandung kalsium, memiliki peran *buffer* agar asam dapat dinetralkan. Apabila rongga mulut berada pada kondisi asam, keseimbangan akan terganggu dan ion Ca^{2+} akan lebih banyak larut dari pada yang keluar dari saliva (Anastasia, 2019). Demineralisasi dapat menurunkan kekerasan dengan membentuk porositas pada enamel (Komariah *et al.*, 2019).

Kandungan cangkang telur terdiri dari kalsium karbonat (91% - 94%), kalsium fosfat (1%) dan organik lain untuk mensintesis CaO (Khandelwal dan Prakash 2016). Menurut penelitian, cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) lebih dipilih karena kandungan kalsium karbonatnya mencapai 96% dan lebih tinggi dari cangkang telur ayam (Nuryantini, *et al.*, 2019). Cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) dapat meningkatkan kadar kalsium dan fosfor pada gigi untuk mendukung proses remineralisasi gigi (Asmawati, 2017). Cangkang telur dipilih sebagai alternatif sumber kalsium dengan tingkat kelarutan yang tinggi (Prayitno *et al.*, 2020).

Partikel kalsium ukuran mikro dapat mengirimkan seluruh ion Ca^{2+} ke permukaan plak dan saliva. kemudian, terjadi peningkatan aktifitas ion Ca^{2+} melalui perlekatan pada plak untuk melindungi dari penurunan pH. Proses ini

mengakibatkan penurunan kejenuhan dalam rongga mulut ketika terdapat agen kariogenik. Hal ini memicu remineralisasi yang ditandai adanya peningkatan kalsium total dalam plak lebih dari sebelas kali lipat dan menurunkan potensi erosive. Erosive adalah hilangnya sebagian jaringan keras karena asam yang bukan berasal dari bakteri mulut (Joiner *et al.*, 2019).

Partikel dengan ukuran nano juga dapat memasok ion Ca^{2+} ke cairan mulut secara kontinu dan meningkatkan pH cairan di sekitar lesi enamel. Partikel ini dapat bertahan lama dan mengeluarkan ion Ca^{2+} (Rahardjo, *et al.*, 2015). Nano kalsium memiliki daya larut yang sangat tinggi dan lebih baik dibandingkan hidroksiapatit untuk memperbaiki tulang dan gigi. Pada saat rongga mulut dalam keadaan asam, nano kalsium mencegah demineralisasi melalui retensi yang sangat baik pada permukaan enamel. Kemudian, terabsorpsi dan mengisi lubang demineralisasi. Nano kalsium akan terpecah sehingga terjadi pertukaran ion Ca^{2+} dan PO_4^{3-} yang lebih tinggi dibandingkan partikel yang tidak berukuran nano. Semakin lama aplikasi nano kalsium, maka akan meningkatkan kekerasan permukaan enamel (Octarina dan Meilita, 2019).

Remineralisasi gigi dengan nanopartikel cangkang telur, membentuk *template* sebagai proses pengendapan ion Ca^{+} dan PO_4^{3-} secara kontinu untuk mengisi kerusakan enamel. Sehingga, mengurangi hilangnya ion Ca^{2+} dan PO_4^{3-} . Uji kekerasan dalam penelitian Kunam *et al.*, (2019) menunjukkan peningkatan kekerasan enamel yang signifikan setelah aplikasi nanopartikel dari cangkang telur. Pengujian kekerasan ini dilakukan dengan *Vickers*

Hardness Tester yang nilai kekerasannya dapat dihitung dengan rumus *Vickers* dan satuannya kg/mm^2 (Maulana, 2018).

Penelitian ini akan membandingkan pengaruh setelah aplikasi gel nano kalsium dan mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) terhadap kekerasan enamel gigi. Peneliti menemukan bahwasanya Allah SWT menciptakan setiap penyakit beserta obatnya dengan memanfaatkan limbah rumah tangga seperti cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) yang kaya kalsium untuk mendukung proses remineralisasi.

Seperti yang diriwayatkan hadist dari HR Bukhari yang berisi :

شِفَاءٌ لَهُ أَنْزَلَ إِلَّا دَاءَ اللَّهِ أَنْزَلَ مَا

“Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya.” (HR Bukhari).

1.2 Rumusan Masalah

Menurut uraian latar belakang masalah dapat suatu permasalahan yang diajukan yaitu : Apakah terdapat pengaruh aplikasi gel nano kalsium dan mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) terhadap kekerasan enamel gigi ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Mengetahui pengaruh aplikasi gel nano kalsium dan mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) terhadap kekerasan enamel gigi.

1.3.2 Tujuan khusus

- a. Untuk mengetahui kekerasan permukaan enamel gigi sebelum dan sesudah aplikasi gel nano kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*).
- b. Untuk mengetahui kekerasan permukaan enamel gigi sebelum dan sesudah aplikasi gel mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*).
- c. Untuk mengetahui kekerasan enamel sebelum dan sesudah aplikasi pasta CPP ACP.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian diharapkan dapat menambah pengetahuan dan referensi pada penelitian selanjutnya di bidang kedokteran gigi mengenai pengaruh gel nano kalsium dan mikro kalsium dari cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) terhadap kekerasan enamel gigi.

1.4.2 Manfaat Terapan

Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan dalam masyarakat sebagai agen remineralisasi untuk mengurangi prevalensi karies gigi.



1.5 Orisinalitas Penelitian

Tabel 1.5 Orisinalitas Penelitian

Peneliti	Judul penelitian	Perbedaan
(Kovtun <i>et al.</i> , 2012)	<i>Chlorhexidine-loaded calcium phosphate nanoparticles for dental maintenance treatment: combination of mineralising and antibacterial effects</i>	Penelitian ini mengamati kombinasi nanopartikel kalsium fosfat dengan polimer adhesi CMC dan <i>Chlorhexidine</i> untuk perawatan gigi
(Memarpour <i>et al.</i> , 2019)	<i>Effect of hydroxyapatite nanoparticles on enamel remineralization and estimation of fissure sealant bond strength to remineralized tooth surfaces: an in vitro study</i>	Penelitian mengamati keefektifan nano-HA yang diaplikasikan sebelum pit dan <i>fissure sealant</i> untuk Remineralisasi lesi karies email.
(Asmawati, 2017)	<i>Identification of inorganic compounds in eggshell as a dental remineralization material</i>	Penelitian ini mengidentifikasi senyawa anorganik setelah aplikasi gel cangkang telur ayam untuk membuktikan adanya remineralisasi permukaan gigi .
(Nuryantini <i>et al.</i> , 2019)	<i>Synthesis and Characterization of Calcium Oxide Nanoparticles from Duck Eggshells using Ball Milling Methods</i>	Penelitian ini menggunakan cangkang telur bebek untuk sintesis dan karakterisasi nanopartikel CaO dari proses kalsinasi dan <i>ball milling</i> .
(Khandelwal dan Prakash, 2016)	<i>Synthesis Characterization of Hydroxyapatite Powder by Eggshell</i>	Penelitian ini menggunakan cangkang telur ayam untuk mensintesis HA dari CaO & H ₂ SO ₄ dan karakterisasi HA menggunakan SEM, XRD, FTIR, & EDX.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

2.1.1 Struktur enamel

Adalah komponen mineral utama enamel yang mengandung kalsium hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 8\text{H}^+ \longrightarrow 10\text{Ca}^{2+} + 6\text{HPO}_4^{2-} + 2\text{H}_2\text{O}$. Kristal HA berjumlah sekitar 88–90% dari volume jaringan atau setara dengan 95–96% berat enamel yang mana kandungan mineralnya meningkat pada *dentine–enamel junction* ke permukaan. Lebar kristal HA 70 nm, tebal 25 nm, dan besar serta meluas hingga seluruh jaringan. Sebagian besar kristalit secara teratur berbentuk heksagonal dalam penampang (Berkovitz *et al.*, 2009).

Setiap unit sel kristalit menyusun molekul yang terdiri dari gugus hidroksil dengan tiga ion kalsium yang melingkarinya dengan *space* sama, yang secara bergantian dikelilingi oleh tiga ion fosfat dengan jarak yang sama seperti gambar 2.1. Ion fosfat dikelilingi dengan pola segi enam oleh enam ion Ca^{2+} . Susunan ion dalam kristal terjadi berulang berdampingan dan membentuk lapisan berlapis (Berkovitz *et al.*, 2009).

Enamel dideskripsikan seperti keramik komposit dengan kandungan kristalit yang menghasilkan bentuk tiga dimensi kompleks. Enamel memiliki unit struktur dasar berupa prisma atau rod yang terdiri dari berjuta – juta kristalit. Prisma akan membentuk *long thin rod* berdiameter 5–6 μm dan panjang mencapai 2,5 mm. Pada enamel terdapat *the boundaries of the*

prisms atau batasan prisma yang menandakan adanya perubahan pada gambaran kristalit sehingga memberikan gambaran yang berbeda dari inti prisma atau *body prism*. Perubahan gambaran kristalit ini disebabkan karena kristal menyimpang 40-60° dibandingkan yang didalam prisma. Selain itu, peningkatan mikroporositas di batasan prisma menyebabkan sedikit material organik yang dapat diterima (Berkovitz *et al.*, 2009).

Terdapat tiga pola prisma pada enamel manusia gambar 2.2 . Pada pola I prisma berbentuk lingkaran, pola II prisma disejajarkan dalam baris paralel, pola III prisma disusun dalam pola *staggered rows* sehingga ekor prisma terletak di antara dua kepala pada baris berikutnya dan memberikan tampilan lubang kunci (Berkovitz *et al.*, 2009).

Enamel memiliki tujuh tingkatan struktur. Secara hierarki dimulai dari kristal hidroksiapatit yang saling bertumpuk untuk membentuk *nanofibril*. Berkumpul membentuk *thick fibrils* sampai *thicker fibrils* yang disebut *crystal fibers*. Berkumpul lagi untuk membentuk kontinu prisma/interprisme. Kemudian prisma dan area interprismatik berkumpul untuk membentuk pita yang diorientasikan di seluruh lapisan enamel (Kelly *et al.*, 2020).

2.1.2 Kandungan enamel

Enamel gigi mengandung 92-96% komponen anorganik, 1-2% organik dan 3-4% air (W / W). Komponen anorganik sebagian besar terdiri dari HA dengan rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4^3)_6(\text{OH})^2$ yang disebut kalsium hidroksiapatit. Komponen organik terdiri dari protein, terutama amelogenin, ameloblastin

dan tuftelin, dengan proteoglikan dan lipoid yang hilang sebagian besar saat maturasi enamel (Qamar *et al.*, 2017). Jumlah protein organik non kolagen amelogenin yaitu 90%. Sedangkan kandungan anorganik meliputi: kristal prismatic pada enamel sebesar 90% lebih banyak dari dentin dan tulang sebesar 70% serta sementum sebesar 45% (Neel *et al.*, 2016).

Komposisi enamel gigi yang berbeda dapat menyebabkan gigi non vital, mudah rapuh, dan tidak dapat diperbaiki. Komponen anorganik kristal apatit dalam bentuk nano kalsium dan fosfat, dapat dikenali dengan baik melalui variasi susunan dan ukuran kristal apatit yang dapat berpengaruh pada kekerasan enamel (Qamar *et al.*, 2017).

2.1.3 Demineralisasi

Tahun 2016 *World Health Organization* (WHO) melaporkan prevalensi karies anak mencapai 60-90%. Menurut penelitian, usia remaja (di bawah 18 tahun) mengalami kasus karies tinggi sebesar 90 – 100% yang terjadi di Eropa, Amerika, Asia dan Indonesia. Faktor penyebabnya adalah usia, ras, genetik, gender, jenis makanan, jarang menyikat gigi, kebiasaan buruk, tidak rutin ke dokter gigi dan faktor host. Bakteri *Streptococcus mutans* adalah salah satu faktor host yang berada dalam plak gigi (Basuki, 2018). Keadaan di dalam rongga mulut dipengaruhi oleh faktor pH, saliva, kapasitas *buffer* dan pembentukan pelikel. Rongga mulut dengan lingkungan asam, menyebabkan terbentuknya pori-pori kecil pada enamel, sehingga terjadi penurunan kekerasan enamel (Syahrial *et al.*, 2016).

Pelikel berperan untuk melindungi enamel dari larutan asam dengan menyebar ke pelikel setelah itu berinteraksi dengan enamel. Kapasitas buffer adalah jumlah alkali atau basa yang mencapai pH 7. Semakin tinggi kapasitas buffer minuman atau makanan, ion – ion dari mineral akan larut untuk menginaktifkan asam. Jumlah saliva juga berhubungan dengan jumlah minuman yang masuk dimana semakin tinggi kapasitas buffer, waktu saliva dalam menetralkan asam di rongga mulut semakin lama (Syahrial *et al.*, 2016).

2.1.4 Remineralisasi

Remineralisasi adalah proses dinamis yang bergantung pada *modifying factor* remineralisasi yang dibagi menjadi dua kelompok, ekstrinsik dan intrinsik. Faktor ekstrinsik terdiri dari pola makan dan pengobatan serta faktor intrinsik sebagian besar dengan obat. Pada proses remineralisasi, saliva adalah faktor biologis penting penentu efek netral pada intraoral saat terpapar asam. Selain bertindak sebagai pembersihan dan antibakteri, saliva bertindak sebagai sumber konstan untuk kalsium dan fosfat. Sehingga dapat menghambat demineralisasi gigi saat pH rongga mulut dalam periode rendah, dan mendukung remineralisasi gigi ketika pH kembali ke keadaan netral (Neel *et al.*, 2016).

Tabel 2.1.4 *Modifying Factors* Remineralisasi

Biologis	Kimia	Kesehatan dan Edukasi	Perilaku
Aliran saliva	pH	Kesehatan saat ini	Kebiasaan makan
Anatomi jaringan lunak	<i>Acid type</i>	Status sosioekonomi	Kebiasaan minum
Anatomi gigi	<i>Chelation potential</i>	Obat-obatan	Frekuensi menyikat gigi

Saliva ketika terstimulasi secara konstan, terjadi peningkatan pH cepat di atas netral. Proses ini membentuk kompleks kalsium fosfat dan glikoprotein yang disebut *salivary precipitin*. *Salivary precipitin* mudah masuk ke dalam plak gigi karena kelarutan kalsium fosfat yang tinggi pada protein saliva (delapan hingga sepuluh kali lebih tinggi dari kalsium fosfat dalam gigi) dan sebagai *sacrificial mineral* yang larut lebih awal sebelum mineral gigi untuk mengurangi demineralisasi (Neel *et al.*, 2016).

Saliva mengandung fluor dan mengangkutnya ke permukaan gigi. Fluorida saliva adalah *key player* dalam mencegah demineralisasi gigi dan meningkatkan remineralisasi (Neel *et al.*, 2016). Proses demineralisasi dan remineralisasi akan menyebabkan fluor meningkat pada fluorapatit. Saliva berperan mengganti gugus hidrogen pada hidroksiapatit menjadi fluorapatit dimana pH kritis fluorapatit 4,5 yang lebih rendah dari hidroksiapatit. Selain itu, fluorapatit memiliki kelarutan yang rendah dibandingkan hidroksiapatit sehingga efek merusak minuman asam terhadap permukaan enamel akan lebih berkurang (Syahrial *et al.*, 2016).

Fluorapatit terbentuk melalui setiap dua ion fluorida yang membutuhkan sepuluh ion kalsium dan enam ion fosfat. Sehingga jika kalsium dan fosfat tidak memadai, dapat membatasi proses remineralisasi. *Casein phosphopeptide*–ACP (CPP-ACP) sudah dikembangkan dan agregasi CPP dengan kalsium fosfat membentuk cluster ACP. CPP-ACP dapat mencegah pengendapan kalsium fosfat dan menghasilkan lingkungan jenuh terhadap enamel, akibatnya demineralisasi dapat dicegah dan remineralisasi meningkat. Tetapi, jika fluoride melebihi dosis maksimum yang direkomendasikan, dapat menyebabkan fluorosis gigi maupun tulang. Fluorosis gigi dikenal *defects of enamel* pada gigi yang sudah termineralisasi, karena terdapat porositas dibawah permukaan yang termineralisasi dengan baik (Neel *et al.*,2016).

Selain saliva sebagai faktor remineralisasi, kandungan anorganik dan organik yang bervariasi menentukan sifat jaringan enamel. Kandungan anorganik yang tinggi menyebabkan enamel lebih kuat dan lebih tahan terhadap tekanan. Sedangkan jika kandungan organik tinggi, dentin akan lebih *resilient* daripada enamel sehingga akan memberikan lapisan yang tangguh di bawah enamel dan sementum. Kandungan anorganik seperti ion kalsium dan fosfat diatur oleh molekul matriks ekstraseluler (ECM) dan berbagai enzim agar masuk dan terfiksasi di tulang, dentin, dan enamel (Neel *et al.*, 2016). Selanjutnya, terdapat urutan ion dengan efek anti kariogenik (Qamar *et al.*,2017).

2.1.5 Mikro Kalsium dan Nano Kalsium

Kalsium sebanyak 35,8% didalam enamel dan fosfat 17,4% (Octarina dan Meilita, 2019). Kalsium dan fosfat pada saliva adalah bagian penting untuk mempertahankan kekuatan dan kesehatan gigi sebagai pertahanan alami terhadap karies. Aktivitas ion kalsium dalam cairan plak dan kadar pH sebagai faktor penting penentu stabilitas permukaan enamel dari serangan agen kariogenik. Perubahan kecil kadar kalsium dalam struktur enamel memiliki efek lebih besar dibandingkan perubahan kadar fosfat. Menurut penelitian, ion Ca^{2+} dapat menghambat larutnya komponen enamel dua puluh kali lebih kuat dari ion PO_4^{3-} sehingga peningkatan kadar kalsium menjadi cara paling efektif untuk mengurangi kondisi tidak jenuh dari serangan kariogenik. Derajat kejenuhan dan tingkat remineralisasi enamel dikatakan optimal apabila rasio Ca/P adalah 1,6. Namun, jika terjadi kelebihan fosfat dalam cairan plak dan saliva, rasio Ca/P mencapai 0,3 (Joiner *et al.*, 2019). Demineralisasi yang terus menerus terjadi, akan membentuk porositas enamel dan menyebabkan larutnya ion Ca^{2+} melalui reaksi penguraian (Panigoro *et al.*, 2015).

Partikel Ca berukuran nano memiliki partikel berukuran puluhan hingga ratusan nanometer dibandingkan ukuran kalsium biasa. Oleh karena itu, laju pelarutan ion Ca^{2+} dari nano kalsium akan jauh lebih cepat dari pada ukuran partikel biasa. Peningkatan kalsium dan pH akan meningkatkan nilai derajat kejenuhan yang berhubungan dengan deposisi mineral apatit pada lesi karies dengan rasio Ca/P 1,7. Terdapat faktor yang

menentukan laju remineralisasi, pertama adalah kecepatan penetrasi ion Ca/P/OH. Tingkat penetrasi tergantung tiga subfaktor meliputi: volume bahan remineralisasi, kedalaman lesi karies, derajat porositas permukaan lesi karies. Kedua, kecepatan membentuk mineral apatit. Apabila pembentukan mineral apatit lebih lambat dari kecepatan penetrasi ion Ca^{2+} , volume bahan remineralisasi tidak akan menjadi faktor keseluruhan penentu laju remineralisasi (Nakashima *et al.*, 2009).

Nano kalsium lebih efektif sebagai pencegahan karies dibandingkan garam kalsium karena daya larutnya tinggi, akibatnya mudah hilang dari rongga mulut. Rongga mulut mengabsorpsi nano kalsium dalam bentuk partikel padat yang secara kontinu mensuplai ion Ca^{2+} ke cairan mulut. Proses ini akan menunjukkan remineralisasi pada lesi karies awal (Rahardjo *et al.*, 2015). Nano kalsium ketika diaplikasikan dapat memaksimalkan penyerapan kalsium oleh struktur enamel dengan melepas ion Ca^{2+} lebih tinggi dibandingkan makro kalsium (Sunardi *et al.*, 2020). Suatu bahan dapat dikatakan nano jika memiliki dimensi kurang dari atau sama dengan 100 nm (Sitosari *et al.*, 2019). Terdapat macam metode untuk mensintesis nano kalsium dari cangkang telur:

Tabel 2.1.5 Metode Sintesis Nano kalsium

Metode sintesis	Ringkasan
Pemanasan/termal	Panaskan kalsit pada suhu 900 °C selama 5 jam setelah itu dihidrolisis dengan kapur dan diperoleh ukuran 50 nm (Sunardi <i>et al.</i> , 2020).
Radiasi gelombang mikro	Lakukan radiasi gelombang mikro pada suhu 160 °C selama 5 menit diperoleh ukuran partikel rata-rata 14 – 24 nm (Sunardi <i>et al.</i> , 2020).
Kopresipitasi	Lakukan kopresipitasi selama 12 jam pada suhu 40 °C menggunakan polivinilpirolidon (PVP) sehingga tidak terjadi aglomerasi dan diperoleh ukuran rata-rata 100 nm (Sunardi <i>et al.</i> , 2020)
Dekomposisi termal	Lakukan dekomposisi termal pada 80°C dan dialiri gas argon diperoleh ukuran partikel rata-rata 91 – 94 nm (Sunardi <i>et al.</i> , 2020)
Kopresipitasi kimia	Lakukan kopresipitasi kimia selama 60 menit pada suhu 80°C dan menggunakan polivinil alkohol mencegah aglomerasi diperoleh ukuran partikel rata-rata 11 nm (Sunardi <i>et al.</i> , 2020).

Lanjutan Tabel 2.1.5

Sol-gel	Kalsinasi pada suhu 900 °C waktu 1 jam diperoleh nanokalsium oksida dengan ukuran 50 – 198 nm (Sunardi <i>et al.</i> , 2020)
Presipitasi	Tahap pembakaran endapan pada suhu 600 °C selama 1 jam di peroleh ukuran 10 – 12 nm (Sunardi <i>et al.</i> , 2020).

2.1.6 CPP-ACP

CPP-ACP / *Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate* adalah bahan antikariogenik untuk memicu remineralisasi pada area plak. Menurut penelitian, terjadi peningkatan sebesar lima kali lipat pada kasus karies in situ manusia. Menurut Reynolds, CPP-ACP sebagai penyedia kalsium-fosfat, melepaskan ion kalsium-fosfat pada plak untuk melindungi keadaan mineral gigi agar tetap jenuh. Hal ini mengakibatkan terjadi penurunan demineralisasi dan peningkatan remineralisasi. Sebagian besar kalsium fosfat distabilkan oleh CPP dalam bentuk ACP yang terikat pada fosfopeptida. Penelitian secara in vitro dan in vivo pada CPP-ACP dari produk susu mengalami peningkatan remineralisasi melalui pembentukan lapisan pelindung. CPP-ACP juga memiliki kemampuan luar biasa untuk mengurangi erosi enamel sehingga saat ini dapat ditemukan produk yang mengandung CPP-ACP seperti obat kumur, *sport drink* , dan permen karet bebas gula (Navgire *et al.*, 2018).

2.1.7 Cangkang Telur Bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*)

Cangkang telur adalah sumber terbesar CaCO_3 (kalsium karbonat) dengan konsentrasi 95%. Komposisi utama berupa *calcite* dengan bentuk kristal kalsium karbonat (CaCO_3). Cangkang telur memiliki berat rata-rata berkisar 5 gram dan 40% kalsium (Asmawati, 2017). Kandungan cangkang telur juga terdapat kalsium fosfat 1 %, magnesium karbonat 1%, dan bahan organik sekitar 3-4% (Aminah dan Mekawati, 2016). Cangkang telur unggas terdapat membran yang mengandung hampir 60% protein {kolagen (35%), Glukosamin (10%), kondroitin (9%) dan asam hialuronat (5%)}. Sedangkan komponen anorganiknya seperti Ca, Mg, Si, Zn dalam jumlah yang lebih sedikit (Mittal *et al.*, 2016).

Cangkang telur bebek, angsa, ayam, dan burung mempunyai tiga lapisan yaitu lapisan terluar, kutikula, dan lapisan *Mammillary*. Kutikula adalah lendir kering yang terletak di uterus unggas untuk melindungi embrio dari infeksi bakteri dan melindungi telur dari kelembapan. Kutikula memiliki lapisan lagi yaitu lapisan Testa. Lapisan Testa adalah lapisan kalsium karbonat dan pemberi warna pada telur selama pertumbuhan. Lapisan *Mammillary* adalah lapisan dibawah testa yang berkontak langsung dengan membran cangkang telur. Matriks berisi serat protein akan terbentuk oleh lapisan kutikula dan *mammillary* serta menempel pada *calcite* (CaCO_3) sehingga menghasilkan banyak porus pada cangkang telur sebagai pertukaran air dan gas (Mittal *et al.*, 2016). Selain itu, lapisan kutikula cangkang telur memiliki ketebalan 10 μm . Struktur cangkang

telur, berat, dan tebal akan mempengaruhi kualitasnya. Cangkang telur dengan kandungan kalsium tinggi akan memiliki berat dan tebal cangkang telur yang tinggi.(Aminah dan Mekawati, 2016).

Berdasarkan penelitian, persentase kalsium cangkang telur unggas saat di ekstraksi menggunakan asam asetat sebesar 25,73% (ayam buras); 23,67% (bebek); 20,67% (ayam ras); dan 21,70% (puyuh). Kemudian, kadar kalsium pada cangkang yang diekstraksi dengan *aquades* adalah **21,01%** (cangkang telur bebek), 20,50% (cangkang telur ayam ras), 18,84% (cangkang telur burung puyuh) dan 16,54% (cangkang telur ayam buras). Setelah itu, hitung persentase rendemen sebagai gambaran dari hasil tepung yang baik setelah proses penepungan yang efisien. Menurut penelitian, rata-rata rendemen bubuk cangkang telur yang diekstraksi dengan asam asetat berkisar 68,97- 88,83% dan yang diekstraksi dengan akuades sekitar **92,60 – 96,47%**. Rendemen ditentukan dengan rumus :

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{berat bubuk cangkang telur (gram)}}{\text{Berat cangkang telur (gram)}} \times 100\%$$

Kandungan air cangkang telur unggas mempengaruhi tinggi rendahnya persentase rendemen suatu bahan (Aminah dan Mekawati 2016).

2.1.8 Vickers microhardness tester (HVM-M3, Shimadzu, Japan)

Kekerasan adalah kemampuan bahan dalam menahan perubahan plastis, goresan atau abrasi karena penetrasi. Kelemahan gigi karena demineralisasi dapat diketahui melalui kekerasan enamelnya. Menurut penelitian Erdemir (2016) permukaan enamel memiliki rata-rata kekerasan berkisar 263-327 VHN (Anastasia, 2019). Walaupun struktur enamel sangat keras, ion dan molekul dari bahan makanan mudah masuk karena sifatnya yang permeabel. Kandungan anorganik dalam enamel akan larut secara kontinu hingga menjadi kronik dan mempengaruhi kekerasan enamel. Penurunan kekerasan enamel akan terjadi bila asam bertemu zat anorganik enamel dan melarutkan seluruh atau separuh mineralnya (Syahrial *et al.*, 2016).

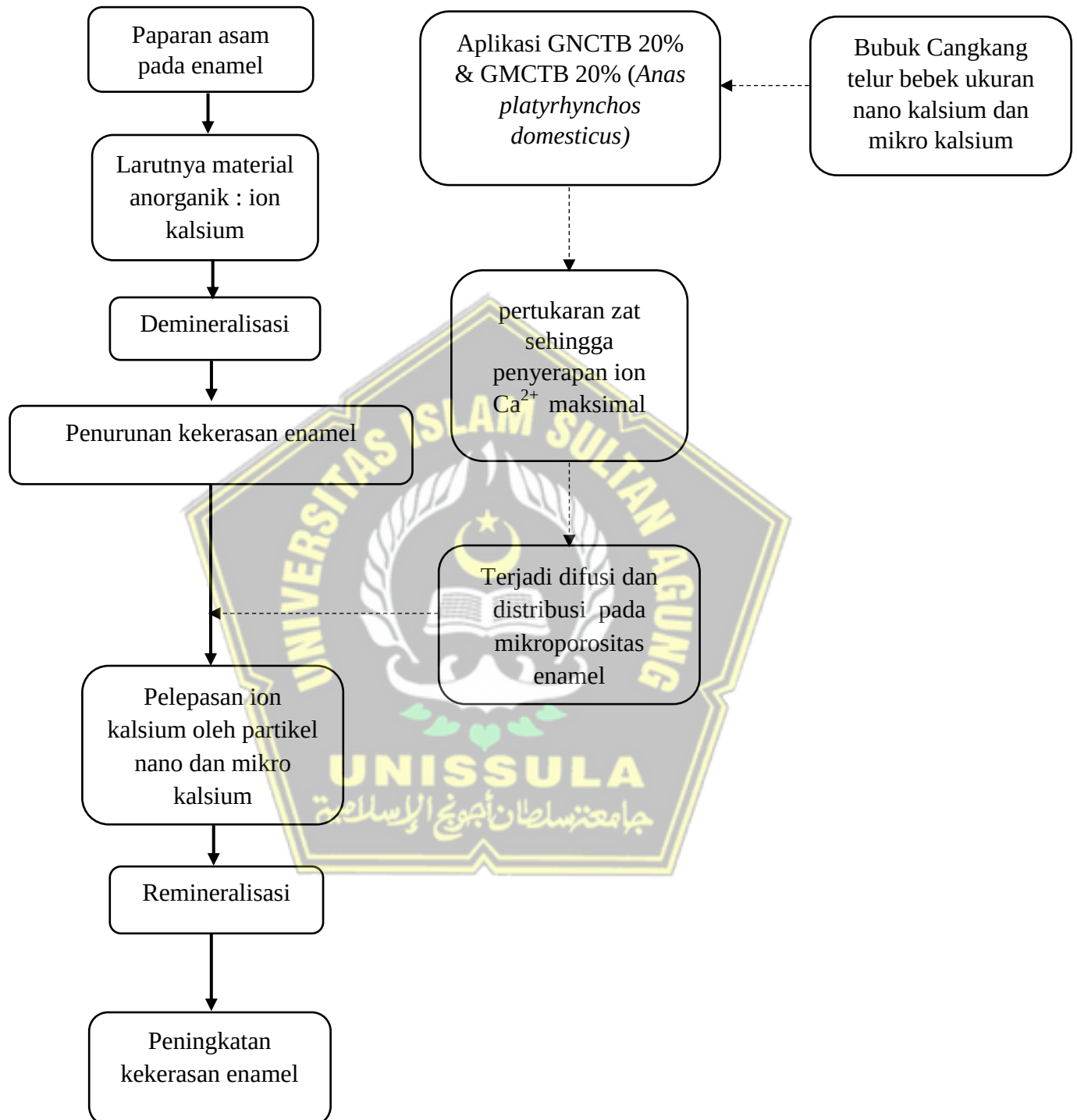
Kekerasan adalah besaran ukuran relatif yang tidak memiliki unit satuan dalam sistem SI. Penentuan kekerasan menggunakan vickers terdapat dua step dasar, yaitu pengukuran primer dan perhitungan nilai kekerasan. Pengukuran primer terdiri dari mengukur panjang diagonal atau diameter lekukan atau kedalaman lekukan. Perhitungan nilai kekerasan dihitung berdasarkan panjang yang diukur sebelumnya sehingga mayoritas kesalahan pengukuran kekerasan muncul dari pengukuran lekukan diagonal (Fabijanec *et al.*, 2015).

Pengukuran kekerasan memiliki banyak kesulitan dan masalah seperti *cracking* dan *chipping* di ujung lekukan yang mana akibat diberi beban. Walaupun ukuran *cracking* kecil, itu dapat menambah panjang diagonal

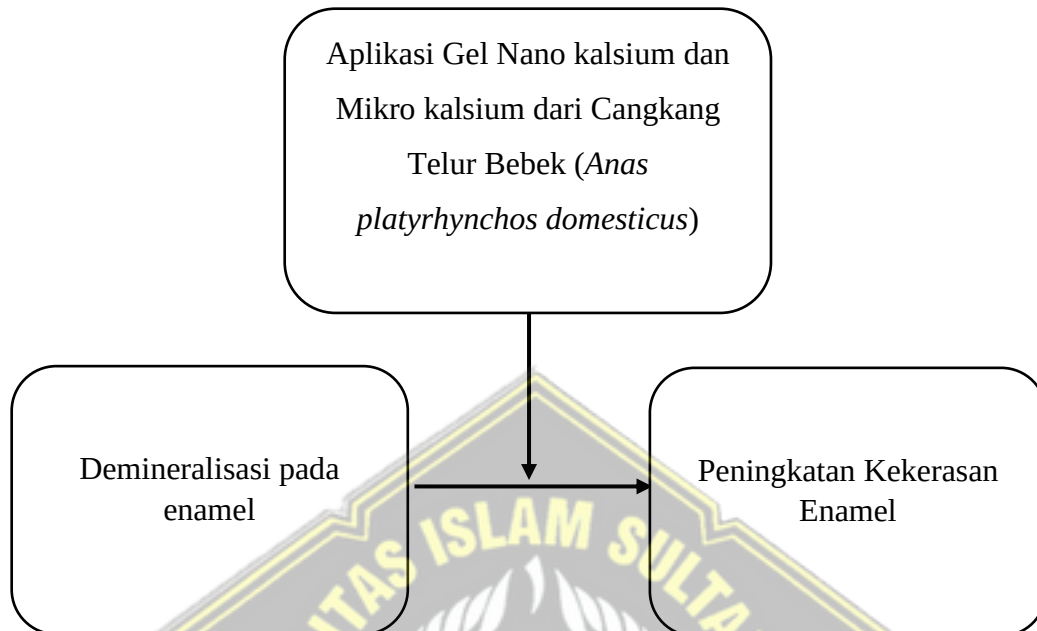
sehingga kualitas dan karakteristik alat optik harus dipertimbangkan. Maka dari itu, pengukuran kekerasan menggunakan nilai yang kecil dari beban akan otomatis ukuran diagonal lekukan *vickers* juga sangat kecil. Apabila nilai diagonal lekukan *vickers* sebesar 31 mikron, nilai kekerasan yang dapat dicapai 2000 HV1. Perbedaan beberapa mikron saja pada diagonal lekukan *vickers* akan terjadi perubahan kekerasan *vickers* sekitar 100 -150 HV1 untuk nilai kekerasan 2000 HV1 (Fabijanac *et al.*,2015).

Mesin kekerasan pada gambar 2.1.8 mempunyai mikroskop *built-in* berkualitas tinggi dilengkapi dengan kamera CCD Olympus DP70 dan chip CCD dengan sistem pemindaian progresif 12,5 juta piksel. Pengukuran diagonal lekukan dapat dilakukan dengan kamera yang dihubungkan ke komputer sehingga gambar dapat diunduh dan diproses dari kamera (Fabijanac *et al.*,2015).

2.2 Kerangka Teori



2.3 Kerangka Konsep



2.4 Hipotesis

Terdapat pengaruh aplikasi gel nano kalsium dan mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) terhadap tingkat kekerasan enamel.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian *true experiment* laboratoris in vitro. Penelitian *true experiment* adalah desain penelitian yang melakukan randomisasi dengan cara menentukan subjek ke dalam kelompok perlakuan dan kelompok kontrol secara random, sehingga membuat kelompok tersebut sebanding. Penelitian ini dilakukan secara langsung pada gigi premolar maksila pasca pencabutan.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *pretest posttest with control group* dengan menggunakan gigi premolar maxilla manusia pasca pencabutan yang disimpan dalam larutan HBSS untuk mempertahankan komponen jaringan pada kondisi fisiologis normal (Inayah dan Herdiyati, 2018).

Penelitian ini dilakukan dengan mengukur tingkat kekerasan pada gigi premolar setelah aplikasi gel nano kalsium dan mikro kalsium dari cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*).

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel terikat

Variabel terikat penelitian ini yaitu tingkat kekerasan enamel.

3.3.2 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini berupa gel nano kalsium dan mikro kalsium dari cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*).

3.3.3 Variabel Terkendali

Variable terkendali penelitian ini adalah meliputi penelitian dan cara pengaplikasian gel ekstrak kalsium cangkang telur bebek pada penelitian.

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Gel Nano Kalsium dari CTB (*Anas Platyrhynchos Domesticus*)

Gel nano kalsium dari cangkang telur bebek adalah sediaan yang diaplikasikan pada sampel yang sudah melewati proses kalsinasi. Gel dibuat dari kalsium cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) dengan ukuran nanopartikel sebagai bahan remineralisasi gigi. Suatu bahan dapat dikatakan nano jika memiliki dimensi kurang dari atau sama dengan 100 nm (Sitosari *et al.*,2019). Gel diukur menggunakan gelas ukur dengan satuan ukur gram dan skala ukur nominal.

3.4.2 Gel Mikro Kalsium dari CTB (*Anas Platyrhynchos Domesticus*)

Gel yang terbuat dari bubuk mikro kalsium cangkang telur bebek (*Anas Platyrhynchos Domesticus*) dan diaplikasikan pada sampel ketika sudah melewati proses kalsinasi. Mikro kalsium memiliki dimensi ukuran 1 µm-1mm. Gel mikro kalsium diukur menggunakan gelas ukur dengan satuan ukur gram dan skala ukur nominal.

3.4.3 Kekerasan enamel

Kekerasan enamel diukur menggunakan alat *Vickers microhardness tester* (HMV-M3, Shimadzu, Japan) dengan indensitas 200 gf dengan proses waktu 15 detik dan waktu penekanan tiap sampel selama 5 detik. Uji Kekerasan enamel dilakukan dengan skala ukur rasio dan satuan ukur kg/mm^2 (Kunam *et al.*, 2019).

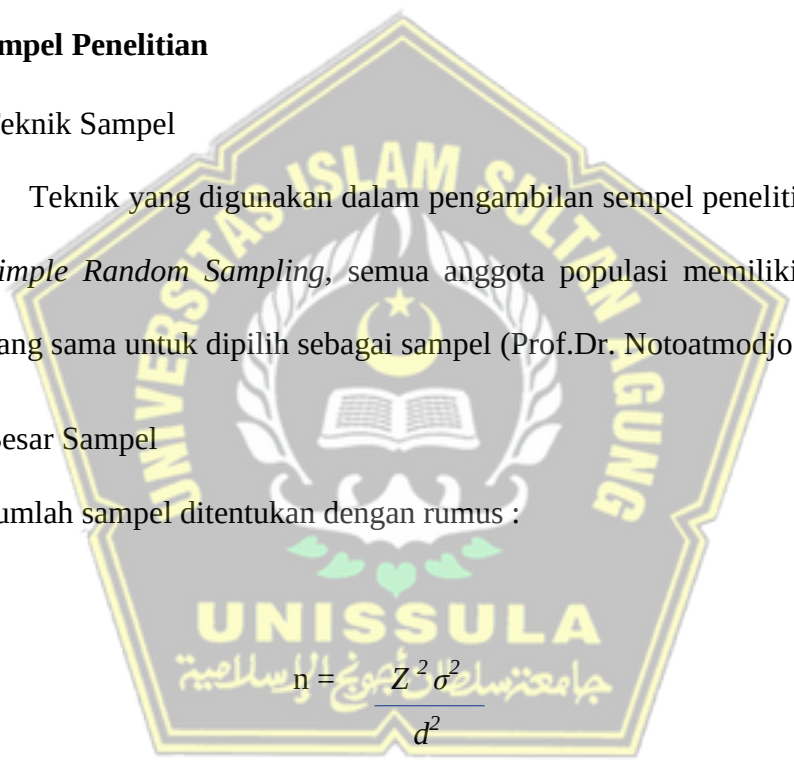
3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Teknik Sampel

Teknik yang digunakan dalam pengambilan sampel penelitian ini adalah *Simple Random Sampling*, semua anggota populasi memiliki kesempatan yang sama untuk dipilih sebagai sampel (Prof. Dr. Notoatmodjo 2010).

3.5.2 Besar Sampel

Jumlah sampel ditentukan dengan rumus :


$$n = \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

keterangan :

n = jumlah sampel minimum

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditoleransi, dimasukkan $d = \sigma = 0,1$

z = konstanta

jika $\alpha = 0,05$, maka $z = 1,96$

Dari rumus diatas didapat jumlah sampel diperlukan :

$$\begin{aligned}
 n &= \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2} \\
 &= \frac{(1,96)^2 (0,01)^2}{(0,01)^2} \\
 &= 3,84 \times 4
 \end{aligned}$$

Menurut perhitungan diatas dapat dilakukan pengambilan sampel minimum sebanyak 4 dengan 2 cadangan gigi premolar.

Sehingga setiap kelompok terdapat 6 sampel yang dibagi menjadi kelompok 1 (GNCTB 20%), kelompok 2 (GMCTB 20%) dan kelompok kontrol (pasta CPP-ACP) dengan total sampel 18 buah gigi.

3.6 Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi

3.6.1 Kriteria Inklusi

1. Gigi premolar *maxilla* yang masih utuh pasca 7 hari pencabutan atau tidak lebih dari 1 bulan.
2. Gigi bebas karies
3. Gigi tidak ada restorasi
4. 1/3 gigi incisalnya rata

3.6.2. Kriteria Eksklusi

1. Gigi fraktur
2. Gigi dengan lesi non karies

3.7 Instrumen Penelitian

3.7.1 Alat penelitian

- *Vickers microhardness tester* (HMV-M3, Shimadzu, Japan).
- *Carborundum disc* (untuk memotong sampel dibagian *cemento enamel junction*).
- Inkubator
- Pinset *dental*
- Masker (Diapro)
- *Handscoen*
- *Handpiece*
- Bur diamond silindris
- Sonde *half moon*
- *Water blow* (sebagai pengering)
- Tanur (pembakaran cangkang telur)
- Spidol hitam
- Baskom
- *Mould* (cetakan)
- Pengaduk
- *Microbrush*
- Blender (peghancur cangkang telur)
- Kertas saring (penyaring hasil ekstraksi HCl)

3.7.2 Bahan penelitian

- 18 Gigi premolar *maxilla* yang disimpan 7 hari pasca pencabutan atau tidak lebih dari 1 bulan.
- Bubuk cangkang telur bebek
- Pasta CPP-ACP (GC Tooth Mousse ®, USA)
- Pumice untuk membersihkan kalkulus dan debris
- Nipagin
- Mortar
- NaCMC
- Gliserol
- Trietanolamin
- Propylene glycol
- alkohol
- Larutan NaOH 10%
- Larutan HCl 2N
- Larutan HBSS
- Etanol 96%
- Vaseline
- Varnish
- *self curing acrylic (powder dan liquid)*
- Larutan saline
- *Aquades* pH 7
- Etsa asam 37%

3.8 Cara Penelitian

a. Persiapan sampel/ Bahan coba

Persiapkan alat, bahan, dan sampel untuk melakukan penelitian. Persiapkan sampel gigi premolar maksila pasca ekstraksi berjumlah 18 buah dan rendam dalam larutan saline selama 30 detik agar bersih dari sisa-sisa jaringan lunak. Kemudian bersihkan mahkota gigi dari kalkulus dan debris menggunakan pumice. Sampel dibilas dua kali dengan air mengalir dan keringkan dengan *water blow* (Asmawati, 2017). Setelah itu, sampel dipotong menggunakan *carborundum disc* dari arah mesial ke distal pada mahkota didekat garis CEJ. Kemudian dibilas dengan aquades agar serbuk gigi larut dalam air dan memudahkan preparasi. Setelah itu ratakan dengan bur diamond silindris untuk menghilangkan pulpa yang tertinggal. Gunakan sonde *half moon* untuk mengetahui permukaan mahkota yang sudah dipotong sudah rata (Nasution *et al.*, 2017). Sampel kemudian disimpan di dalam larutan HBSS untuk mempertahankan komponen jaringan pada kondisi fisiologis normal (Inayah dan Herdiyati, 2018). Penyimpanan dapat juga didalam larutan formalin 10% selama 1 minggu untuk mempertahankan aktifitas antimikroba (Nawrocka dan Szymańska, 2019). Tahapan penanaman gigi di akrilik :

- Mahkota gigi premolar diletakan di dasar dan di tengah *mould* (cetakan) dengan tinggi 20 mm dan berdiameter 15 mm yang sudah dioles vaselin dan bagian dasar ditutup dengan kertas stiker dengan bagian bukal gigi menghadap ke dasar *mould* dan menempel di kertas stiker.

- Campuran *self curing acrylic (powder dan liquid)* yang dituangkan ke dalam *mould* sampai penuh dan dibutuhkan waktu sekitar 30 menit untuk mengeras.
- Setelah mengeras, hasil cetakan dikeluarkan dari *mould*.
- Bagian hasil cetakan yang terdapat gigi kemudian siap di asah dengan amplas sampai bagian gigi terlihat dan terekspos (Gumilang *et al.*, 2018).



Gambar 3.8.1 Sampel ditanam pada akrilik

- Kemudian membagi sampel menjadi 3 kelompok yaitu kelompok 1 perlakuan GNCTB , kelompok 2 perlakuan GMCTB, kelompok kontrol perlakuan pasta CPP-ACP.
- Sampel yang sudah ditanam, dipoles lagi menggunakan kertas amplas 400, 1200 dan 1500 grit agar permukaan rata. Setiap bagian tengah sisi gips beri tanda garis dengan goresan pisau, untuk mendapatkan garis tengah ke arah *cervico occlusal* sebagai pedoman jalur penelitian (Anastasia, 2019).

b. Pembuatan lesi demineralisasi

Menggunakan etsa 37% selama 60 detik. Kemudian bilas dengan air mengalir dan keringkan dengan tisu.

c. Pengukuran Kekerasan sebelum Perlakuan

- 1) Alat ukur kekerasan gigi disiapkan yaitu *Vickers microhardness tester* (HMV-M3, Shimadzu, Japan).
- 2) Siapkan 3 kelompok gigi premolar maksila yang tertanam pada akrilik dengan tanda titik tiga di sebelah kiri.



Gambar 3.8.3 *Pre test* kekerasan

- 3) Sampel dijepit dengan alat penjepit pada meja alat *Vickers microhardness tester* dan diatur sedemikian rupa agar tepat di tengah lensa objektif dan difokuskan dengan cara memutar pegangan yang ada pada kanan alat searah jarum jam.
- 4) Setelah terlihat fokus pada lensa okuler, sampel digeser ke arah kanan sehingga tepat berada di bawah *diamond penetrator*.
- 5) *Diamond penetrator* akan turun yang ditandai dengan menyalnya lampu hijau. Apabila *diamond penetrator* telah menyentuh sampel, maka lampu merah akan menyala dan setelah 30 detik, *diamond penetrator* akan naik lalu ditunggu sampai lampu padam.

- 6) Sampel digeser kembali ke tempat lensa okuler dan difokuskan lagi, sehingga akan terlihat gambar belah ketupat yang merupakan bekas penekanan.
- 7) Uji kekerasan dilakukan dengan indensitas 200 gf dengan proses waktu 15 detik dan waktu penekanan tiap sampel selama 5 detik. Panjang diagonal diukur dengan mikrometer yang ada di lensa okuler. Hasil pengukuran panjang diagonal diambil rata-ratanya dan dimasukkan ke dalam rumus:

$$VHN = \frac{1,854 \times P}{d^2}$$

Ket:

VHN = kekerasan sampel (kg/mm²)

P = berat beban (200 gram)

d = panjang diagonal (1/1000 mm) (Anastasia, 2019).

d. Kalsinasi CTB (*Anas platyrhynchos domesticus*)

Cangkang telur bebek dibersihkan dengan air yang mengalir dan membrannya dipisahkan. Kemudian dikeringkan pada temperatur ruangan. Cangkang telur dikalsinasi pada suhu 1000°C selama 5 jam untuk menghilangkan komponen organik dan pelepasan CO₂ melalui

Reaksi panas



Penelitian Nurlaela *et al.*, (2014) hasil kalsinasi dari cangkang telur bebek telah merubah senyawa CaCO_3 menjadi CaO yang kemurniannya lebih tinggi dari cangkang telur ayam. Pembentukan CaO ditandai penurunan materi pada bubuk cangkang telur karena pelepasan gas CO_2 yang merupakan produk samping dari reaksi panas atau proses kalsinasi (Haryono *et al.*, 2018).

e. Rendemen HCl Sintesis NCTB & MCTB (*Anas platyrhynchos domesticus*)

Rendemen adalah parameter untuk mengetahui keefektifan suatu produk. Semakin besar persentasenya maka semakin baik nilai ekonomis dan keefektifitasan produk (First *et al.*, 2019). Menurut penelitian, rata-rata rendemen bubuk cangkang telur yang diekstraksi dengan akuades sekitar 92,60 – 96,47% dengan kadar kalsium pada CTB yang diekstraksi dengan *aquades* adalah 21,01% (Aminah dan Mekawati, 2016).

Sintesis nano kalsium dapat dilakukan dengan cara 80 gram bubuk CTB diekstraksi dengan 250 ml HCl 2N pada suhu 90°C selama **2 jam** dan saring hingga menjadi filtrat. Tambahkan 250 ml NaOH 3N. Kemudian dipisahkan dengan cara dekantasi (memisahkan campuran larutan secara sederhana) dan disaring. Netralisasi menggunakan akuades sampai pH 7 dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100°C hingga terbentuk bubuk nano kalsium oksida (Sunardi *et al.*, 2020).

Sintesis mikro kalsium sama tetapi dibedakan waktu ekstraksinya. Bubuk CTB diekstraksi dengan HCl 2N pada suhu 90°C selama **1 jam** dan ditambahkan dengan NaOH 3N. Menurut penelitian First *et al.*, (2019) ekstraksi

bubuk CTB selama 1 jam menyebabkan ikatan partikel masih berbentuk gumpalan besar. Mikro kalsium yang dihasilkan berukuran 1 μm -1mm. Kemudian waktu ekstraksi 2 jam sudah bisa menghasilkan nanopartikel (First *et al.*,2019).

f. Penentuan Kalsium dalam bubuk NCTB dan MCTB (*Anas platyrhynchos domesticus*)

Bubuk NCTB dan MCTB $\pm$ 1 gram campurkan dengan 50 ml aquabides dan 5 ml HNO_3 sebagai proses destruksi untuk memutus senyawa kompleks sehingga hanya tersisa ion Ca^{2+} . Kemudian tambahkan batu didih dan panaskan lalu dinginkan. Tambahkan 1 ml HClO_4 untuk menghilangkan senyawa lain yang masih tersisa lalu panaskan hingga terbentuk uap putih dan dinginkan. Saring dengan kertas whatman no.42 ke dalam labu takar 10 ml. Larutan standar dibuat dengan konsentrasi 20%. Kemudian larutan induk masukkan ke dalam labu takar 100 ml dan diencerkan dengan aquabides (H_2O) sampai tanda batas. Setelah itu gunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang 239,9 nm untuk mengukur absorbansi (Warsy *et al.*, 2016). Terakhir catat dan hitung kadar Ca bubuk NCTB dan MCTB.

Konsentrasi kalsium yang digunakan sebanyak 20% karena menurut Abdelnabi *et al.*,(2020) konsentrasi 30% menyebabkan presipitasi kalsium lebih cepat tanpa penetrasi ke dalam gigi, sedangkan konsentrasi 10% tidak cukup untuk remineralisasi yang memadai. Cara mendapatkan konsentrasi Ca 20% adalah pertama menentukan jumlah gram gel yang diperlukan yaitu 400 gram gel .

$$20\% = 0,2 \times 400 = \mathbf{80 \text{ gr NCTB dan MCTB}}$$

$$= 320 \text{ gr basis } (400-20).$$

Kemudian dalam uji SSA, kandungan Ca dalam cangkang telur bebek sebesar **1,548 gr/L kalsium**.

1 gram/25 ml (pelarut)

$$X \text{ gr serbuk} / 1000 \text{ mL (1 Liter)} = 1 \text{ gram} / 25 \text{ ml}$$

$$X = 1000 : 25 = \mathbf{40 \text{ gram}}$$

Jadi, untuk mendapatkan **1,548 gr/L kalsium** harus membutuhkan **40 gram** NCTB dan MCTB.

Jika konsentrasi gel 20% dalam 80 gram NCTB dan MCTB, maka jumlah Ca nya adalah **3,096 gr Ca ~ 3 gram**.

g. Pengukuran SEM pada Bubuk NCTB dan MCTB (*Anas platyrhynchos domesticus*)

Perbesaran SEM 5000x untuk melihat perbedaan morfologi bubuk NCTB dan MCTB (Prayitno *et al.*, 2020). Serbuk hasil sintesis dikarakterisasi menggunakan SEM untuk memastikan pencampuran asam dan basa menyebabkan larutan menjadi jenuh dan menghasilkan endapan kalsium yang halus dan berukuran nano (Sunardi *et al.*, 2020). Partikel nano biasanya berukuran 1-100 nm (Aminingsih *et al.*, 2018).

h. Pembuatan Gel NCTB dan MCTB (*Anas platyrhynchos domesticus*)

Campurkan 2 gram Trietanolamin, 2 gram propylene glycol, dan 0,2 gram nipagin lalu masukan dalam gelas beker dan aduk hingga homogen. Kemudian tambahkan 3 gram CMC-Na hingga terbentuk 320 gram basis gel dan campurkan 80 gram bubuk NCTB hingga terbentuk GNCTB (Mardjuni, 2019). Sedangkan pembuatan GMCTB sama hanya saja menggunakan bubuk mikropartikel yang dihasilkan dari proses rendemen sebelumnya.

i. Perlakuan Terhadap Sampel

Tiga kelompok sampel masing-masing diaplikasikan GNCTB 20%, GMCTB 20%, dan CPP-ACP dengan menggunakan microbrush selama 3 menit. Keluarkan, cuci dengan air mengalir dan keringkan dengan tisu. Rendam di saliva buatan dan letakkan di inkubator 37°C sampai waktu perlakuan berikutnya. Lakukan 2x1 hari selama 7 hari (Chaudhary dan Tripathi, 2017).



Gambar 3.8.9 Penyimpanan sampel

j. Pengukuran Kekerasan setelah perlakuan

Setelah 7 hari, gigi dikeluarkan dari wadahnya masing – masing, kemudian dicuci dengan air mengalir dan keringkan dengan tisu. Setelah itu lakukan pengukuran kekerasan dengan alat *Vickers Hardness Tester*.

- 1) Alat ukur kekerasan gigi disiapkan yaitu *Vickers microhardness tester* (HVM-M3, Shimadzu, Japan).
- 2) Siapkan 3 kelompok gigi premolar maksila pada akrilik yang sudah perlakuan dengan diberi tiga titik kanan sebagai pedoman pengujian .



Gambar 3.8,10 post test kekerasan

- 3) Sampel dijepit dengan alat penjepit pada meja alat *microvickers hardness tester* dan diatur sedemikian rupa agar tepat di tengah lensa objektif dan difokuskan dengan cara memutar pegangan yang ada pada kanan alat searah dengan jarum jam.
- 4) Setelah terlihat fokus pada lensa okuler, sampel digeser ke arah kanan sehingga tepat berada di bawah *diamond penetrator*.

- 5) *Diamond penetrator* akan turun yang ditandai dengan menyalnya lampu hijau. Apabila *diamond penetrator* telah menyentuh sampel, maka lampu merah akan menyala dan setelah 30 detik, *diamond penetrator* akan naik lalu ditunggu sampai lampu padam.
- 6) Sampel digeser kembali ke tempat lensa okuler dan difokuskan lagi, sehingga akan terlihat gambar belah ketupat yang merupakan bekas penekanan.
- 7) Uji kekerasan dilakukan dengan indensitas 200 gf dengan proses waktu 15 detik dan waktu penekanan tiap sampel selama 5 detik. Panjang diagonal diukur dengan mikrometer yang ada di lensa okuler. (Kumayasari dan Sultoni, 2017). Hasil pengukuran panjang diagonal diambil rata-ratanya dan dimasukkan ke dalam rumus:

$$VHN = \frac{1,854 \times P}{d^2}$$

Ket:

VHN = kekerasan sampel (kg/mm²)

P = berat beban (200 gram)

d = panjang diagonal (1/1000 mm) (Anastasia, 2019).

3.9 Tempat dan Waktu

3.9.1 Tempat Penelitian

1. Laboratorium Kimia FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sebagai tempat pembuatan gel nanokalsium dan mikro kalsium dari cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*).
2. Laboratorium Mikrobiologi FK Universitas Islam Sultan Agung Semarang, sebagai tempat perlakuan gel nano kalsium dan mikro kalsium dari cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*).
3. Laboratorium Bahan Fakultas Teknik Mesin dan Industri Universitas Gajahmada, sebagai tempat melakukan uji kekerasan permukaan enamel gigi.

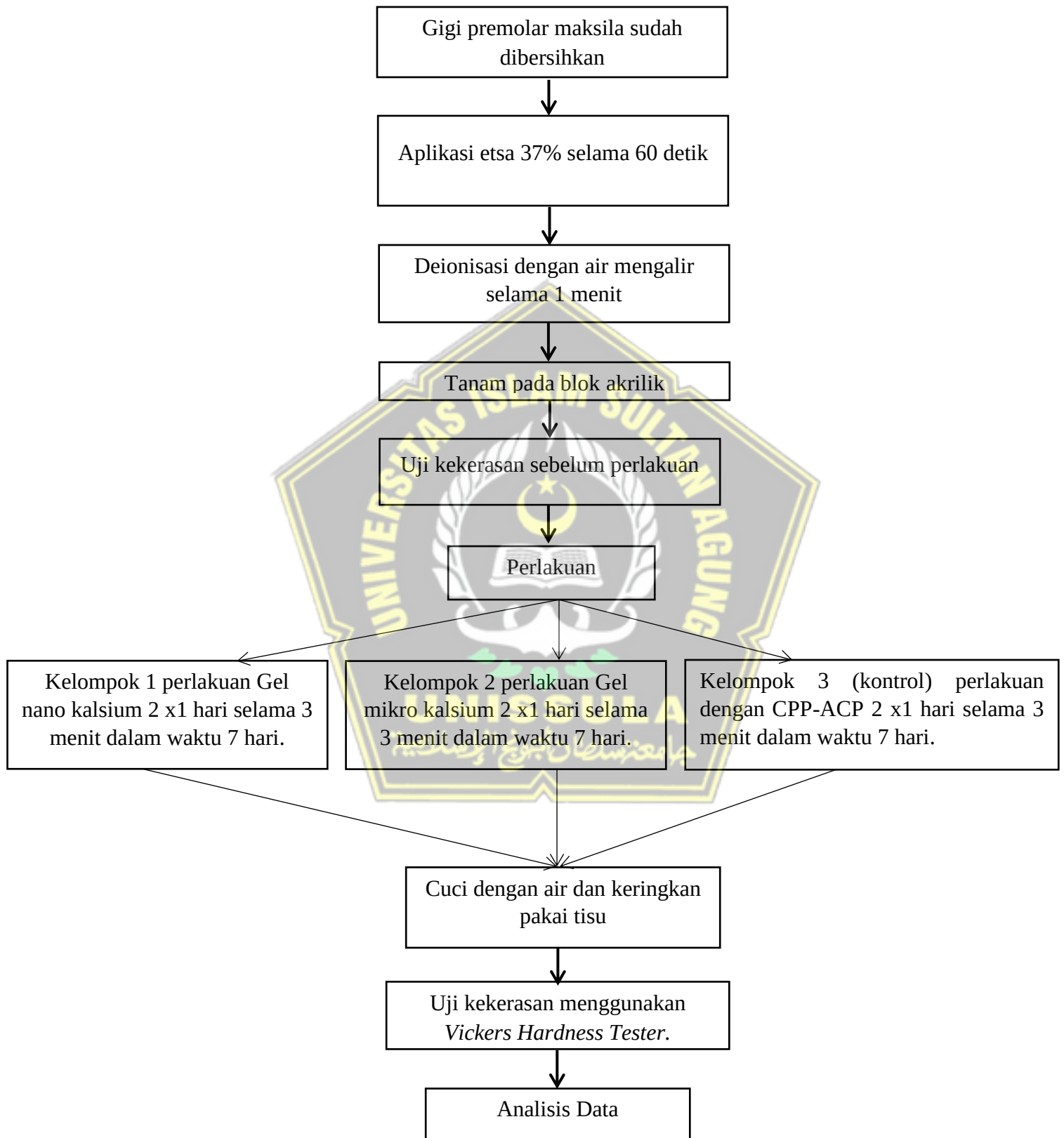
3.9.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari Oktober sampai November 2021.

3.10 Analisis data

Analisis hasil digunakan untuk mengetahui pengaruh aplikasi gel nano kalsium dan mikro kalsium dari cangkang telur bebek terhadap kekerasan enamel gigi yang menggunakan SPSS 23.0 for Windows dengan analisis data skala rasio. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sample < 50 . Setelah itu untuk mengetahui bagaimana perbedaan kekerasan sebelum dan sesudah aplikasi spesimen, menggunakan uji *paired T-Test*. Apabila tidak terdistribusi normal lakukan uji *Wilcoxon* sebagai alternatif. Selanjutnya lakukan uji hipotesis numerik komparatif independen untuk mengetahui signifikansi beda kekerasan antar kelompok penelitian menggunakan *Kruskal Wallis*. Kemudian, lakukan uji *post Hoc Mann Whitney* untuk mendeteksi letak perbedaan kekerasan antar kelompok.

3.11 Alur penelitian



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian ini menunjukkan keadaan sebelum dan sesudah aplikasi GNCTB 20%, GMCTB 20%, dan pasta CPP-ACP yang memiliki pengaruh signifikan terhadap kekerasan enamel gigi. Data hasil penelitian *pre test* dan *post test* uji kekerasan menunjukkan:

4.1.1 Hasil data *Pre test* dan *Post test* kekerasan Gigi

Tabel 4.1.1.1 Rata-Rata dan Selisih Rata-Rata Kekerasan Gigi *Pre test* dan *Post test*

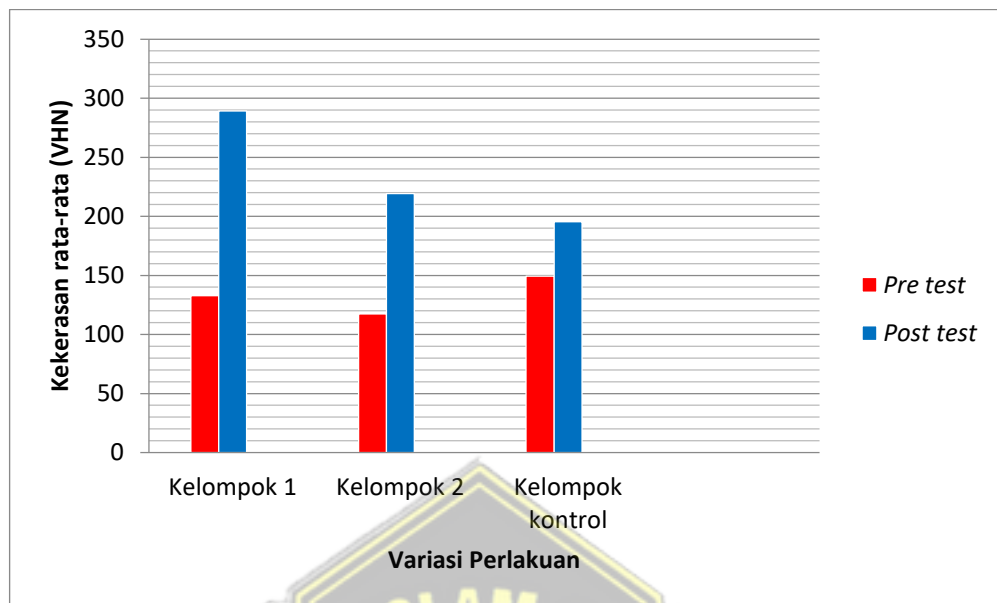
Variasi Perlakuan	Mean $\pm$ Std.Deviasi <i>Pre test</i> (VHN)	Mean $\pm$ Std.Deviasi <i>Post test</i> (VHN)	Selisih Kekerasan Rata-Rata (VHN)
Kelompok 1	132.9017 $\pm$ 20.76599	289.2233 $\pm$ 39.87519	+156,33
Kelompok 2	117.4717 $\pm$ 13.11659	219.3667 $\pm$ 75.53469	+101,90
Kelompok Kontrol	149.2633 $\pm$ 12.01080	195.4717 $\pm$ 32.15115	+46,21

Ket :

kelompok 1: GNCTB 20%

Kelompok 2: GMCTB 20%

Kelompok Kontrol: pasta CPP-ACP



Gambar 4.1.1 Rata-Rata *Pre test* dan *Post test*

Tabel 4.1.1 dan gambar 4.1.1 menunjukkan rata-rata kekerasan gigi paling tinggi pada kelompok 1 setelah pemberian GNCTB (20%). Kelompok kontrol menunjukkan rata-rata kekerasan gigi paling rendah setelah pemberian pasta CPP-ACP.

4.1.2 Hasil Analisis Statistik

Tabel 4.1.2.1 Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

	<i>Shapiro-wilk</i>
	Sig
Kekerasan_sebelum	0,691
Kekerasan_sesudah	0,664

Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel <50 . Hasil uji normalitas pada Tabel 4.1.2.1 diperoleh 2 sampel *pre test* dan *post test* dari 18 sampel dengan nilai $P (>0,05)$ maka disimpulkan bahwa data terdistribusi normal.

Tabel 4.1.2.2 uji Homogenisitas

	Sig
Kekeraan <i>Pre test</i>	0,375
Kekerasan <i>Post test</i>	0,064

Tabel 4.1.2.2 *based on mean* seluruh data *pre test* dan *post test* memiliki nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa tiga kelompok data berasal dari populasi yang memiliki variansi yang sama (homogen).

Tabel 4.1.2.3 Uji Hipotesis *Paired T-Test*

	<i>Paired t- test</i> Sig
Kekerasan <i>pre test</i> & Kekerasan <i>post test</i>	0,000

Uji hipotesis menunjukkan nilai ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan terdapat pengaruh pemberian GNCTB 20%, GMCTB 20%, dan pasta CPP-ACP terhadap kekerasan enamel.

Tabel 4.1.2.4 Uji *Kruskal-Wallis*

	<i>Kruskal-wallis</i> Sig
Kekerasan <i>sebelum</i>	0,022
Kekerasan <i>sesudah</i>	0,061

Tabel 4.1.2.4 nilai signifikansi *post test* sebesar 0,061 ($p > 0,05$) maka disimpulkan tidak ada perbedaan kekerasan gigi yang signifikan setelah perlakuan antara kelompok 1 (GNCTB 20%), kelompok 2 (GMCTB 20%), dan kelompok kontrol.

Tabel 4.1.2.5 Hasil uji *Mann Whitney* Ketiga Kelompok

	Sig		
	Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok Kontrol
Kelompok 1	-	0,109	0,016
Kelompok 2	-	-	0,936
Kelompok Kontrol	-	-	-

Tabel 4.1.2.5 maka disimpulkan terdapat perbedaan kekerasan gigi yang signifikan setelah perlakuan antara kelompok 1 (GNCTB 20%) dan kelompok kontrol (CPP-ACP). Nilai p 0,937 ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa kelompok 2 (GMCTB 20%) dan kelompok kontrol (pasta CPP-ACP) yang paling tidak memiliki perbedaan signifikan setelah perlakuan. Perlakuan menggunakan GNCTB 20% lebih berpengaruh terhadap kekerasan gigi dibandingkan pasta CPP-ACP (kontrol).

4.2 Pembahasan

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experiment* laboratoris in vitro dengan rancangan penelitian *pretest posttest with control group*. Penelitian ini digunakan untuk melihat pengaruh pemberian gel nano kalsium 20% dan gel mikro kalsium 20% dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) terhadap kekerasan enamel menggunakan *Vickers microhardness tester* (HMV-M3, Shimadzu, Japan). Pengujian dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan.

Tabel 4.1.1.1 menunjukkan selisih rata-rata dan rata-rata kekerasan permukaan enamel yang meningkat sebelum dan sesudah perlakuan antara ketiga kelompok. Hal ini terjadi karena cangkang telur umumnya mengandung kalsium karbonat (91% - 94%), kalsium fosfat (1%) dan bahan organik lainnya untuk mensintesis CaO (Khandelwal dan Prakash, 2016). Kandungan tersebut dapat meningkatkan kadar kalsium pada gigi untuk mendukung proses remineralisasi (Asmawati, 2017). Kelompok 1 (GNCTB 20%) mengalami peningkatan rata-rata kekerasan dan selisih rata-rata permukaan enamel yang signifikan dibandingkan kelompok 2 dan kontrol. Hal ini terjadi karena nano kalsium mengandung kalsium berukuran ratusan nanometer yang laju pelarutan ion Ca^{2+} lebih cepat dibandingkan partikel lainnya (Nakashima *et al.*, 2009). Penelitian ini sejalan dengan penelitian Kunam *et al.*, (2019) bahwa bubuk cangkang telur ukuran partikel nano dapat mengembalikan struktur kekerasan gigi yang hilang. Kelompok 2 (GMCTB 20%) juga mengalami peningkatan permukaan enamel tetapi tidak sebesar kelompok 1. Bahan yang berukuran mikropartikel dapat mengirimkan ion Ca^{2+} melalui perlekatan pada daerah enamel yang terdemineralisasi (Joiner *et al.*, 2019). Hasil penelitian ini didukung oleh Joiner *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa partikel mikro kalsium dapat meningkatkan kekerasan enamel melalui peningkatan konsentrasi kalsium dalam saliva.

Tabel 4.1.1.1 kelompok kontrol (pasta CPP-ACP) menunjukkan selisih rata-rata dan peningkatan rata-rata kekerasan permukaan enamel antara sebelum dan sesudah perlakuan. Hal ini terjadi karena pasta CPP-ACP

mampu melepaskan ion kalsium-fosfat untuk mempertahankan keadaan jenuh mineral enamel gigi sehingga menurunkan demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi (Navgire *et al.*, 2018).

Tabel 4.1.2.3 menunjukkan adanya pengaruh aplikasi GNCTB 20% , GMCTB 20%, dan pasta CPP-ACP. Kemudian pada Tabel 4.1.2.4 menunjukkan tidak ada perbedaan kekerasan enamel yang signifikan antara kelompok 1, kelompok 2, dan kelompok kontrol. Hasil Uji *Mann whitney* Tabel 4.1.2.5 dapat disimpulkan rata-rata kekerasan kelompok 1 dan kontrol berbeda secara signifikan, artinya aplikasi GNCTB 20% lebih mampu meningkatkan kekerasan enamel dibandingkan pasta CPP-ACP. Kemudian kelompok 2 dan kelompok kontrol tidak menunjukkan perbedaan kekerasan yang signifikansinya, artinya aplikasi GMCTB 20% mengalami peningkatan kekerasan enamel yang tidak jauh berbeda dengan pasta CPP-ACP. Kelompok 1 dan kelompok 2 tidak menunjukkan perbedaan kekerasan yang signifikan, artinya aplikasi GNCTB 20% mengalami peningkatan kekerasan enamel yang tidak jauh berbeda dengan GMCTB 20%. Hal ini didukung oleh penelitian Octarina dan Meilita, (2019) yang menyatakan bahwa nano kalsium memiliki kelarutan yang lebih baik dibandingkan hidroksiapatit dalam memperbaiki gigi dan melakukan pertukaran materi untuk meningkatkan kekerasan enamel.

Remineralisasi dapat terjadi apabila ion kalsium berada dalam keadaan yang konstan. Kondisi pH yang turun menjadi 5,5 menyebabkan pengikatan mineral apatit sehingga hidroksiapatit terurai menjadi ion Ca^{2+} , PO_4^{3-} , dan

OH⁻. Jumlah ion Ca²⁺ yang larut seimbang dengan ion Ca²⁺ yang keluar dari saliva dan akan diserap oleh enamel gigi. Saliva berperan sebagai *buffer* untuk menetralkan asam dan mengandung kalsium. Apabila rongga mulut dalam kondisi asam, keseimbangan akan terganggu dan ion Ca²⁺ akan lebih banyak larut dari pada yang keluar dari saliva (Anastasia, 2019). Saliva dapat menghambat demineralisasi gigi saat pH rongga mulut dalam pH rendah, dan mendukung remineralisasi gigi ketika pH kembali ke keadaan netral (Neel *et al.*, 2016).

Peningkatan yang signifikan kelompok 1 (GNCTB 20%) terjadi karena nano kalsium menyediakan ion Ca²⁺ ke cairan mulut secara kontinu, meningkatkan pH cairan di sekitar lesi enamel dan bertahan lama untuk mengeluarkan ion Ca²⁺ (Rahardjo *et al.*, 2015). Tingkat kelarutannya yang lebih baik dibandingkan hidroksiapatit dalam memperbaiki tulang dan gigi, menyebabkan mudahnya terserap dalam poros enamel untuk mencegah demineralisasi melalui retensi yang sangat baik pada permukaan enamel ketika kondisi asam (Octarina dan Meilita, 2019). Tingkat pelepasan ion Ca²⁺ yang tinggi pada akhirnya menyebabkan pertukaran materi yang mencapai dentin dan pulpa berupa ion Ca²⁺ dan PO₄³⁻ (Zhen, 2006). Proses ini disebabkan karena adanya faktor yang menentukan laju remineralisasi, pertama adalah kecepatan penetrasi ion Ca²⁺, ion fosfat, dan OH⁻. Tingkat penetrasi tergantung tiga subfaktor meliputi: volume bahan remineralisasi, kedalaman lesi karies, derajat porositas permukaan lesi karies. Kedua, kecepatan membentuk mineral apatit. Apabila pembentukan mineral apatit

lebih lambat dari kecepatan penetrasi ion Ca^{2+} , volume bahan remineralisasi tidak akan menjadi faktor keseluruhan penentu laju remineralisasi (Nakashima *et al.*, 2009).

Mikro kalsium dapat mengirimkan seluruh ion Ca^{2+} yang meningkatkan aktifitas ion Ca^{2+} melalui perlekatan pada plak untuk melindungi dari penurunan pH. Proses ini mengakibatkan penurunan kejenuhan dalam rongga mulut ketika terdapat agen kariogenik. Hal ini memicu remineralisasi yang ditandai adanya peningkatan kalsium dan menurunkan potensi erosive. Erosive adalah hilangnya sebagian jaringan keras karena asam yang bukan berasal dari bakteri mulut (Joiner *et al.*, 2019).

Berdasarkan uraian diatas, maka aplikasi GNCTB 20% lebih efektif dibandingkan GMCTB 20% dan pasta CPP-ACP (kontrol) untuk meningkatkan kekerasan enamel gigi dan diharapkan dapat menjadi bahan alternatif untuk mengurangi prevalensi karies gigi.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diatas menunjukkan adanya pengaruh setelah perlakuan yaitu

- a. Terdapat peningkatan yang signifikan pada sebelum dan sesudah aplikasi gel nano kalsium, gel mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) dan CPP-ACP.
- b. Perlakuan gel nano kalsium 20% dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) menunjukkan peningkatan kekerasan permukaan enamel yang lebih signifikan dibandingkan pasta CPP-ACP.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya sebaiknya melakukan

1. Perlakuan dengan konsentrasi yang lebih beragam untuk lebih mengetahui keefektifan gel nano kalsium dan mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek (*anas platyrhynchos domesticus*) terhadap kekerasan enamel gigi.
2. Penelitian dengan studi *In vivo* untuk lebih mengetahui perbedaan sebelum dan sesudah diberi perlakuan GNCTB dan GMCTB.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelnabi, Ali, Nermeen Kamal Hamza, Ola M. El-Borady, and Tamer M. Hamdy. 2020. Effect of Different Formulations and Application Methods of Coral Calcium on Its Remineralization Ability on Carious Enamel. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* 8(D):94–99.
- Aminah, Siti, and Wulandari Mekawati. 2016. Calcium Content and Flour Yield of Poultry Eggshell With Acetic Acid Extraction. 49–53.
- Anastasia, Danica. 2019. Perbedaan Kekerasan Permukaan Enamel Gigi Setelah Perendaman Dalam Berbagai Minuman Berenergi. *Jurnal Ilmiah Dan Teknologi Kedokteran Gigi* 15(2):47.
- Asmawati, Asmawati. 2017. “Identification of Inorganic Compounds in Eggshell as a Dental Remineralization Material.” *Journal of Dentomaxillofacial Science* 2(3):168.
- Basuki, Kustiadi. 2018. Faktor-Faktor Kejadian Karies Gigi Pada Balita Di Wilayah Kerja Puskesmas Betungan Kota Bengkulu. *Journal of Nursing and Public Health* 6(1):46–53.
- Berkovitz, B. K. B., G. R. Holland, and B. J. Moxham. 2009. *Oral Anatomy, Histology and Embryology*. 4th ed. edited by A. Taylor and L. Stader. London: Mosby Elshevier.
- Chaudhary, Iqra, and Abhay M. Tripathi. 2017. “Effect of Casein Phosphopeptide–Amorphous Calcium Phosphate and Calcium Sodium Phosphosilicate on Artificial Carious Lesions: An in Vitro Study .” *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 10(3):261–66.
- Fabijanec, Tamara Alexsandrov, Marko Katic, Zelco Alar, and Febo Menelao. 2015. Comparison of Vickers Hardness Measurement in High Hardness Range Faculty of Mechanical Engineering and Naval Architecture , Laboratory for Precise Measurement of Physikalisch-Technische Bundesan. (September).
- First, Lourenty, Laura Ryan Dias Septaningrum, Kinanti Pangestuti, Jufrinaldi, Rizki Hidayat, and Desi Khosilawati. 2019. “Sintesis & Karakteristik Nano Kalsium Dari Limbah Tulang Ayam Broiler Dengan Metode Presipitasi.” *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia* 3(2):69–73.
- Gumilang, S. A., R. Meidyawati, and N. Djauharie. 2018. “Assessing the Impact of Immersing Teeth in Fresh Orange Juice and Commercial Orange Juice on Enamel Hardness: An in Vitro Study.” *Journal of Physics: Conference Series* 1073(3).

- Hartami, Edina, Irmawati, and Herawati. 2019. "Perbedaan Kadar Kalsium dan Fosfor Gigi Sulung pada Anak dengan Def-T Rendah dan Tinggi." *E-Prodenta Journal of Dentistry* 3(2):232–39.
- Haryono, Liamita Christi Natanael, Rukiah, and Yati B. Yulianti. 2018. "Kalsium Oksida Mikropartikel Dari Cangkang Telur Sebagai Katalis Pada Sintesis Biodiesel Dari Minyak Goreng Bekas." *Jurnal Material Dan Energi Indonesia* 08(01):8–15.
- Inayah, Yayah, and Yetty Herdiyati. 2018. "Penanganan Avulsi Dua Gigi Permanen Pada Anak Usia 12 Tahun." *Jurnal of Indonesian Dental Association* 1(1):86–91.
- Joiner, Andrew, Fred Schäfer, Kate Hornby, Mark Long, Margaret Evans, Abraham, and Tim Beasley and Pam. 2019. "Enhanced Enamel Benefits from a Novel Fluoride Toothpaste." *International Dental Journal* 59(1):244–53.
- Kelly, Ariana M., Anna Kallistova, Erika C. Küchler, Helena F. Romanos, Andrea Lips, Marcelo C. Costa, Adriana Modesto, and Alexandre R. Vieira. 2020. "Measuring the Microscopic Structures of Human Dental Enamel Can Predict Caries Experience." *Journal of Personalized Medicine* 10(1).
- Khandelwal, Himanshu, and Satya Prakash. 2016. "Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Eggshell." *Journal of Minerals and Materials Characterization and Engineering* 04(02):119–26.
- Komariah, Ade, Selly Parcelia, and Bambang S. Trenggono. 2019. "Pretreatment Of Nano Chitosan And Nano Calcium (X. Gideon) In The Application Of Acetic Acid To Enamel Hardness." *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research* 7(3):258–66.
- Kovtun, Anna, Diana Kozlova, Kathirvel Ganesan, Caroline Biewald, Nadine Seipold, Peter Gaengler, Wolfgang H. Arnold, and Matthias Eppel. 2012. "Chlorhexidine-Loaded Calcium Phosphate Nanoparticles for Dental Maintenance Treatment: Combination of Mineralising and Antibacterial Effects." *RSC Advances* 2(3):870–75.
- Kumayasari, Magdalena Feby, and Arif Indro Sultoni. 2017. "Studi Uji Kekerasan Rockwell Superficial vs Micro Vickers." *Jurnal Teknologi Proses Dan Inovasi Industri* 2(2).
- Kunam, D., D. Sampath, S. Manimaran, and M. Sekar. 2019. "Effect of Indigenously Developed Nano-Hydroxyapatite Crystals from Chicken Egg Shell on the Surface Hardness of Bleached Human Enamel: An In Vitro Study." *Contemp Clin Dent Journal* 10(3):489–493.

- Mardjuni, P. I. .. 2019. *Analisis Efektivitas Substrat Dan Gel Tulang Ikan Bandeng (Chanos Chanos) Terhadap Kekeraan Enamel Gigi Setelah Aplikasi Hydrogen Peroxide (H₂O₂) 6%*. Semarang.
- Maulana, Nizar Bagas. 2018. "Pengaruh Variasi Beban Indentor Vickers Hardness Tester Terhadap Hasil Uji Kekerasan Material Aluminium Dan Besi Cor." *Mer-C* 1(10):1–5.
- Memarpour, Mahtab, Fereshteh Shafiei, Azade Rafiee, Mina Soltani, and Mohammad Hossein Dashti. 2019. "Effect of Hydroxyapatite Nanoparticles on Enamel Remineralization and Estimation of Fissure Sealant Bond Strength to Remineralized Tooth Surfaces: An in Vitro Study." *BMC Oral Health* 19(1):1–13.
- Mittal, Alok, Meenu Teotia, R. K. Soni, and Jyoti Mittal. 2016. "Applications of Egg Shell and Egg Shell Membrane as Adsorbents: A Review." *Journal of Molecular Liquids* 223:376–87.
- Moynihan, Paula. 2016. "Sugars and Dental Caries: Evidence for Setting a Recommended Threshold for Intake." *Advances in Nutrition* 7(1):149–56.
- Nakashima, Syozi, Makoto Yoshie, Hiroshi Sano, and Armasastra Bahar. 2009. "Effect of a Test Dentifrice Containing Nano-Sized Calcium Carbonate on Remineralization of Enamel Lesions in Vitro." *Journal of Oral Science* 51(1):69–77.
- Nasution, Abdillah Imron, Ridha Andayani, and Putri Disa Maulida. 2017. "Pengaruh Durasi Pemaparan Larutan Fluoride Dengan Konsentrasi 0,15% Terhadap Perubahan Kekasaran Permukaan Dentin." *Cakradonya Dent J* 9(2):83–89.
- Navgire, Suhas, Prashant Bondarde, Sudha Patil, Shoeb Mujawar, Aruna Vk, and Ashutosh Chaudhari. 2018. "Comparative Evaluation of the R Emineralization P Otential of C Hicken E Ggshell P Owder and C PP- A CP on D Emineralized E Namel : A n I n V Itro S Tudy." 5(4):11–15.
- Nawrocka, Agnieszka, and Monika Łukomska-Szymańska. 2019. "Extracted Human Teeth and Their Utility in Dental Research. Recommendations on Proper Preservation: A Literature Review." *Dental and Medical Problems* 56(2):185–90.
- Neel, Ensanya Ali Abou, Anas Aljabo, Adam Strange, Salwa Ibrahim, Melanie Coathup, Anne M. Young, Laurent Bozec, and Vivek Mudera. 2016. "Demineralization–Remineralization Dynamics in Teeth and Bone." *International Journal of Nanomedicine* 11:4743–63.
- Nurlaela, A., S. U. Dewi, K. Dahlan, and D. S. Soejoko. 2014. "Pemanfaatan

Limbah Cangkang Telur Ayam Dan Bebek Sebagai Sumber Kalsium Untuk Sintesis Mineral Tulang.” *Jurnal Pendidikan Fisika Indonesia* 10(1):81–85.

Nuryantini, Ade Yeti, Citra Deliana Dewi Sundari, Halimahtussa’diah Halimahtussa’diah, and Bebeh Wahid Nuryadin. 2019. “Synthesis and Characterization of Calcium Oxide Nanoparticles from Duck Eggshells Using Ball Milling Methods.” *Jurnal Kimia Valensi* 5(2):231–135.

Octarina, and Rahma Meilita. 2019. “Pengaruh Pasta Gigi Dengan Kandungan Nano Kalsium Dan Nano Kitosan Terhadap Kekerasan Permukaan Email.” *Prosiding Seminar Nasional Pakar* 0(0):1-2.2-1.2.6.

Panigoro, Syahril, Damajanty H. C. Pangemanan, and Juliatri. 2015. “Kadar Kalsium Gigi Yang Terlarut Pada Perendaman Minuman Isotonik.” *E-GIGI* 3(2):356–60.

Prayitno, A. H., B. Prasetyo, and A. Sutirtoadi. 2020. “Synthesis and Characteristics of Nano Calcium Oxide from Duck Eggshells by Precipitation Method.” *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 411(1).

Prof.Dr. Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. 1st ed. Jakarta: PT Rineka Cipta.

Qamar, Zeeshan, Zubaidah Binti Haji Abdul Rahim, Hooi Pin Chew, and Tayyaba Fatima. 2017. “Influence of Trace Elements on Dental Enamel Properties: A Review.” *Journal of the Pakistan Medical Association* 67(1):116–20.

Rahardjo, Anton, Desita Dyah Tri Nugraheni, Ghina Humaira, Melissa Adiatman, and Diah Ayu Maharani. 2015. “Efficacy of Toothpaste Containing Nano Calcium in Dentin Remineralization.” *Makara Journal of Health Research* 19(2):43–47.

Sitosari, Heriati, Alma Linggar Jonarta, Yustina Andwi Ari Sumiwi, and Tetiana Haniastuti. 2019. “Rapid Enamel Deposition on Sprague Dawley after Nano Calcium Supplementation during Pregnancy.” *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* 4(3):120.

Sunardi, Sunardi, Erlynda Desy Krismawati, and Argoto Mahayana. 2020. “Sintesis Dan Karakterisasi Nanokalsium Oksida Dari Cangkang Telur.” *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia* 16(2):250.

Syahrial, Aizar Agi, Priyawan Rahmadi, and Deby Kania Tri Putri Putri. 2016. “Perbedaan Kekerasan Permukaan Gigi akibat Lama Perendaman dengan Jus Jeruk (Citrus Sinensis . Osb) secara In Vitro.” *Jurnal Kedokteran Gigi* I(1):1–5.

- Warsy, Warsy, Sitti Chadijah, and Waode Rustiah. 2016. Optimalisasi Kalsium Karbonat Dari Cangkang Telur Untuk Produksi Pasta Komposit. Vol. 4.
- Zhen. 2006. Application Method of Nano Calcium Phosphate like Salt for Tooth Paste Product. Chinese.

