PERBEDAAN PENGARUH PENGAPLIKASIAN GEL NANO KALSIUM DAN MIKRO KALSIUM CANGKANG TELUR BEBEK *(anas platyrhincus domesticus)* TERHADAP MIKROPOROSITAS ENAMEL

Karya Tulis Ilmiah

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan

Mencapai Gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Diajukan oleh

Shofa Salsabila

31101800089

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

2022

KARYA TULIS ILMIAH

PERBEDAAN PENGARUH PENGAPLIKASIAN GEL NANO KALSIUM DAN MIKRO KALSIUM CANGKANG TELUR BEBEK *(anas platyrhincus domesticus)* TERHADAP MIKROPOROSITAS ENAMEL

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Shofa Salsabila

31101800089

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal 18 Januari 2022

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Ketua Tim Penguji — **Dr. drg Sandy Christiono, Sp.KGA**

Anggota Tim Penguji I — **drg. Prima Agusnawanti, Sp.KGA**

Anggota Tim Penguji II — **drg. Muhamat Mukhtar S A, M.Biomed**

Semarang, 18 Januari 2022 ...

Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,

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

NIK.210100058

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Shofa Salsabila

NIM : 31101800089

Dengan ini menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah yang berjudul :

"PERBEDAAN PENGARUH PENGAPLIKASIAN GEL NANO KALSIUM DAN MIKRO KALSIUM CANGKANG TELUR BEBEK *(anas platyrhincus domesticus)* TERHADAP MIKROPOROSITAS ENAMEL"

Adalah benar asli 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 aturan yang berlaku.

Semarang, 30 Agustus 2022

(Shofa Salsabila)

PERNYATAAN PERSETUJUAN UNGGAH KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	:	Shofa Salsabila
NIM	:	31101800089
Program Studi	:	Kedokteran Gigi
Fakultas	:	Kedokteran Gigi

Dengan ini menyerahkan karya ilmiah berupa ~~Tugas Akhir~~/Skripsi/~~Tesis/Disertasi~~* dengan judul :

PERBEDAAN PENGARUH PENGAPLIKASIAN GEL NANO KALSIUM DAN MIKRO KALSIUM CANGKANG TELUR BEBEK *(anas platyrhincus domesticus)* TERHADAP MIKROPOROSITAS ENAMEL

dan menyetujuinya menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung serta memberikan Hak Bebas Royalti Non-ekslusif untuk disimpan, dialihmediakan, dikelola dalam pangkalan data, dan dipublikasikannya di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap mencantumkan nama penulis sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian hari terbukti ada pelanggaran Hak Cipta/Plagiarisme dalam karya ilmiah ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 7 September 2022

Yang menyatakan,

(Shofa Salsabila)

*Coret yang tidak perlu

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

"Apapun yang menjadi takdirmu, akan mencari jalannya menemukanmu"

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini saya persembahkan untuk :

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung

Dosen Pembimbing dan Dosen Penguji

Orang Tua

Sahabat dan Teman – teman

Semua pihak yang membantu dalam pembuatan Karya Tulis Ilmiah ini

PRAKATA

Puji syukur atas kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul Perbedaan Pengaruh Pengaplikasian Gel Nano Kalsium Dan Mikro Kalsium Cangkang Telur Bebek *(Anas Platyrhincus Domesticus)* Terhadap Mikroporositas Enamel. Kita panjatkan sholawat serta salam kepada baginda Nabi Muhammad SAW serta keluarga, sahabat, dan seluruh pengikutnya.

Penulis menyadari penyusunan Karya Tulis ilmiah ini tidak akan selesai tanpa adanya bantuan serta dukungan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih dengan penuh rasa hormat kepada:

1. drg. Suryono, S.H, M.M, Ph.D selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung periode 2014-2021
2. Dr.drg Yayun Siti Rochmah Sp.BM selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung.
3. drg. Prima Agusmawanti, Sp.KGA selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan serta pengarahan, kepada penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini,
4. drg. Muhamat Muhtar S Abdurrohman, M.Biomed selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan, kepada penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini,
5. Dr.drg Sandy Christiono Sp.KGA selaku penguji yang telah memberikan masukan dan arahan kepada penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Kedua orang tua yang selalu memberikan dukungan, dan doa setiap saat sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Teman seperjuangan KTI Arika, Cindya, Dirzka dan teman teman angkatan 2018 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung
8. Para sahabat Hafisza, Nabila, Shafa, Nindhi, dan Anastasya yang selalu memberikan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini
9. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis berharap Karya Tulis Ilmiah ini dapat menambah informasi, serta bermanfaat bagi pengembang ilmu dalam bidang kodekteran gigi.

Wassalamualikum

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN iii
PERNYATAAN PUBLIKASI KARYA TULIS ILMIAH iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN v
PRAKATA vi
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR SINGKATAN xii
ABSTRAK 1
BAB I 3
PENDAHULUAN 3
1.1 Latar Belakang 3
1.2 Rumusan Masalah 6
1.3 Tujuan Penelitian 6
1.3.1 Tujuan Umum 6
1.3.2 Tujuan Khusus 7
1.4 Manfaat Penelitian 7
1.4.1 Manfaat Teoritis 7
1.4.2 Manfaat Aplikatif 7
1.5 Orisinalitas Penelitian 8
BAB II 9
TINJAUAN PUSTAKA 9
2.1 Tinjauan Pustaka 9
2.1.1 Enamel 9
2.1.1.1 Komposisi Enamel 9
2.1.1.2 Struktur Enamel 9
2.1.2 Karies 11
2.1.3 Remineralisasi 13
2.1.4 Kalsium 14
2.1.5 Cangkang Telur Bebek *(anas platyrhincus domesticus)* 16
2.1.6 Scanning electron microscope (SEM) 18
2.1.7 *Image J* 20
2.2 Kerangka Teori 22

2.3 Kerangka Konsep 22
2.4 Hipotesis 23
BAB III 24
METODE PENELITIAN 24
3.1 Jenis Penelitian 24
3.2 Rancangan Penelitian 24
3.3 Variabel Penelitian 24
3.3.1 Variabel Terikat 24
3.3.2 Variabel Bebas 24
3.3.3 Variabel Terkendali 25
3.4 Definisi Operasional 25
3.4.1 Mikroporositas 25
3.4.2 Gel nano kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek 25
3.4.3 Gel mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek 25
3.5 Sampel Penelitian 25
3.5.1 Teknik Sampel 25
3.5.2 Besar Sampel 25
3.6 Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi 26
3.7 Instrumen Penelitian 27
3.8 Cara Penelitian 28
3.8.1 Ethical Clearance 28
3.8.2 Persiapan sampel dan bahan 28
3.8.3 Rendemen menggunakan HCl 29
3.8.4 Kalsinasi cangkang telur bebek 30
3.8.5 Pembuatan gel nano kalsium dan mikro kalsium 30
3.8.6 Pembuatan lesi demineralisasi 31
3.8.7 Pengaplikasian gel nano kalsium dan mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek serta CPP-ACP 31
3.8.8 Pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) 32
3.9 Tempat dan Waktu 32
3.9.1 Tempat 32
3.9.2 Waktu 33
3.10 Analisis Hasil 33
3.11 Alur Penelitian 34

BAB IV 35
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 35
4.1 Hasil Penelitian..... 35
4.2 Pembahasan 38
BAB V..... 42
KESIMPULAN DAN SARAN..... 42
5.1 Kesimpulan..... 42
5.2 Saran 42
DAFTAR PUSTAKA 43
LAMPIRAN 48

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rata-rata diameter mikroporositas……39
Tabel 4.2 Hasil uji normalitas data……..…..…40
Tabel 4.3 Hasi uji homogenitas…….,……...…….40
Tabel 4.4 Hasil Anova…….……..41

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.1.2 Tingkatan struktur enamel……10

Gambar 2.1.1.2 Tipe prisma enamel ……..11

Gambar 2.1.2 Faktor terjadinya karies……..12

Gambar 2.1.6 SEM……20

Gambar 2.1.6 . Permukaan enamel gigi yang dilihat menggunakan SEM……21

Gambar 4.1 Permukaan enamel setelah aplikasi agen remineralisasi……...…36

DAFTAR SINGKATAN

CEJ : *Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate*

CPP-ACP : *Cemento Enamel Junction*

SEM : *Scanning Electro Microscope*

ERI *: Enamel Remineralization index*

ABSTRAK

Mikroporositas enamel dimulai dengan larutnya komponen organik dan anorganik inti prisma yang menyebabkan terbentuknya ruang pada bagian tengah kristal hidroksiapatit, sehingga struktur prisma enamel menjadi tidak teratur dan kasar. Metode untuk mengembalikan mineral enamel yang larut melalui proses remineralisasi.Remineralisasi dapat terjadi jika ada kalsium yang cukup. Salah satu sumber kalsium terbesar dapat diperoleh dari cangkang telur bebek *(Anas platyrhyncos domesticus).* Selain jumlah kalsium remineralisasi juga dipengaruhi oleh ukuran sebuah partikel agen remineralisasi. Bentuk partikel nano diyakini dapat meningkatkan proses remineralisasi pada gigi. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pengaplikasian gel nano kalsium dan mikro kalsium cangkang telur bebek *(anas platyrhincus domesticus)* terhadap mikroporositas enamel pada proses remineralisasi gigi

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*, yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu perlakuan dengan gel ekstrak mikro kalsium cangkang telur bebek, gel ekstrak nanokalsium cangkang telur bebek, dan CPP ACP sebagai kelompok kontrol. Sampel diuji menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk melihat mikroporositas enamel serta menghitung diameter mikroporositas

Gambaran permukaan SEM yang paling halus adalah kelompok aplikasi gel nanokalisum cangkang telur bebek, serta hasil rerata diameter mikroporositas enamel pada kelompok perlakuan dengan gel ekstrak mirkokalsium cangkang telur bebek yaitu 0,9764 µm, hasil perlakuan dengan gel ekstrak nanokalsium cangkang telur bebek yaitu 1,9286 µm, dan hasil perlakuan dengan CPP ACP yaitu 1,3235 µm.

Hasil uji *Anova* ditemukan hasil p 0.081 yang berarti p > 0,05, dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Adanya perbedaan gambaran permukaan enamel antara aplikasi dengan gel ekstrak mikro kalsium cangkang telur bebek dan gel ekstrak nanokalsium cangkang telur bebek, serta tidak ada perbedaan diameter mikroporositas yang signifikan antara kelompok perlakuan.

Kata Kunci : gel ekstrak mikro kalsium cangkang telur bebek, gel ekstrak nanokalsium cangkang telur bebek, mikroporositas enamel

ABSTRACT

The microporosity of the enamel begins with the dissolution of the organic and inorganic components of the prism core which causes the formation of a space in the center of the hydroxyapatite crystal, so that the prism structure of the enamel becomes irregular and rough. Method for restoring soluble enamel minerals through a remineralization process. Remineralization can occur if there is sufficient calcium. One of the largest sources of calcium can be obtained from duck egg shells (Anas platyrhyncos domesticus). In addition to the amount of calcium remineralization is also influenced by the size of a particle of the remineralizing agent. The shape of nanoparticles is believed to increase the remineralization process in teeth. The purpose of this study was to determine the effect of the application of nano calcium gel and micro calcium duck egg shell (anas platyrhincus domesticus) on the microporosity of the enamel in the process of tooth remineralization.

This study is an experimental study with a post test only control group design, which was divided into 3 groups, namely treatment with duck eggshell calcium micro extract gel, duck eggshell nanocalcium extract gel, and CPP ACP as a control group. Samples were tested using a Scanning Electron Microscope (SEM) to see the microporosity of the enamel and calculate the diameter of the microporosity

The smoothest surface image of SEM is the application group of duck eggshell nanocalcium gel, and the average diameter of enamel microporosity in the treatment group with duck eggshell microcalcium extract gel is 0.9764 m, the result of treatment with duck eggshell nanocalcium extract gel is 1.9286 m, and the result of treatment with CPP ACP is 1.3235 m.

The results of the Anova test found p 0.081, which means $p > 0.05$, it can be concluded that there is no significant difference between the treatment groups.

There were differences in the appearance of the enamel surface between applications with duck eggshell calcium micro extract gel and duck eggshell nanocalcium extract gel, and there was no significant difference in microporosity diameter between the treatment groups.

Keywords: *duck eggshell calcium micro extract gel, duck eggshell nanocalcium extract gel, enamel microporosity*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Gigi merupakan jaringan keras yang terdiri dari 4 struktur yaitu dentin, pulpa, enamel, dan sementum. Enamel merupakan struktur terluar pada gigi, dan merupakan suatu jaringan yang paling keras pada tubuh manusia. Secara struktural enamel terdiri *enamel rod* atau prisma enamel, *rod sheath,* dan *cementing inter-rod subtance.* Enamel terdiri dari 96% bahan anorganik berupa hidroksiapatit, dan 4% bahan organik (Setyawati dan Waladiyah, 2019). Komponen anorganik tersebut dapat mengalami proses demineralisasi disebabkan salah satunya karena adanya paparan asam. Asam tersebut akan berdifusi ke dalam interprismatik enamel dan melarutkan enamel (Sa'adah *et al.*, 2017). Hediana *et al* (2015) menyebutkan bahwa proses terbentuknya mikroporositas pada enamel dimulai dengan larutnya inti prisma, setelah itu akan terjadi pembesaran ruang interprismatik pada bagian tepi lainnya. Hilangnya inti prisma ini menyebabkan terbentuknya ruang pada bagian tengah kristal hidroksiapatit, menyebabkan struktur prisma enamel menjadi tidak teratur dan kasar. Perluasan dan perbesaran ruang hingga mencapai interprismatik akan menyebabkan permukaan enamel mengalami kerusakan yang berbentuk seperti rumah lebah. Proses tersebut dikenal dengan demineralisasi (Mukarromah *et al.*, 2018).

Proses demineralisasi gigi terjadi dalam waktu yang lama akan menyebabkan hilangnya translusensi enamel karena adanya porositas yang luas pada lapisan enamel, dan akan membentuk lesi tanpa kavitas atau bahkan menjadi

lesi dengan kavitas (Desneli and Muryani, 2019). Cara mengembalikan mineral enamel yang larut akibat proses demineralisasi yaitu dibutuhkan proses remineralisasi. Remineralisasi adalah kembalinya ion mineral pada kristal hidroksiapatit di permukaan gigi (Zulsantritus dan Edrizal, 2016). Proses remineralisasi membutuhkan bahan yang mengandung kalsium, fosfor, dan pH dalam mulut yang netral yaitu sekitar 7. Remineralisasi terjadi jika adanya ion kalsium dan fosfor yang terdeposit pada lapisan permukaan gigi yang terdapat mikroporositas, ion tersebut akan berdifusi kedalam mikroporositas. Ion yang masuk kedalam mikroporositas dapat berdifusi ke segala arah salah satunya kristal enamel yang kemudian akan diserap oleh *hypomineralized* enamel (Widyaningtyas *et al.*, 2014)

Ada beberapa bahan-bahan yang dapat diaplikasikan pada gigi yang dapat meningkatkan proses remineralisasi yaitu *Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP)* (Neel *et al.*, 2016). Rachmawati *et al* (2019) menyebutkan CPP-ACP suatu bahan yang dapat membantu dalam proses remineralisasi gigi yang mengandung *casein phosphopeptide* (CPP), bahan ini juga mengandung kalsium dan fosfat yang tinggi, sehingga mampu menghambat proses demineralisasi.

Selain CPP-ACP ada bahan pilihan yang dapat menjadi sumber kalsium adalah salah satunya cangkang telur bebek. Cangkang telur bebek juga merupakan sumber kalsium karbonat terbesar (Asmawati, 2017). Berat rata-rata dari cangkang telur adalah 5 gram dan 40% cangkang telur terdiri dari kalsium. Salah satu cangkang telur yang memiliki kalsium karbonat tinggi adalah cangkang telur bebek

(anas platyrhincus domesticus) memiliki sekitar 98,101% kalsium karbonat dan sedikit *metal oxide* (Tangboriboon dan Suttiprapar, 2016). Kalsium dalam cangkang telur dapat digunakan untuk meningkatkan kekerasan gigi. Kalsium digunakan biasanya dalam bentuk mikro partikel dimana pelepasannya kurang maksimal, oleh karena itu diperlukan ekstrak kalsium dari cangkang telur yang dibuat menjadi nano partikel yang dapat menjadi salah satu agen remineralisasi yang baik. Karena nano partikel memiliki kemampuan melepas ion yang lebih baik daripada mikro partikel (Arifa *et al.*, 2019). Nano partikel mempunyai bentuk yang sangat kecil sehingga mudah untuk berpenetrasi pada permukaan enamel yang terdapat defek karena adanya proses demineralisasi. Efektivitas dari nano partikel dapat mencegah karies dengan cara menghambat pertumbuhan dari biofilm dan dapat membantu proses remineralisasi gigi (Husyaerry dan Setiawan, 2018). Penetrasi ion kalsium dan fosfat dapat terjadi karena mikroporositas yang disebabkan oleh asam mengakibatkan enamel gigi memiliki tegangan yang tinggi sehingga memungkin kan ion-ion tersebut masuk ke dalam mikroporositas. Mikroporositas tersebut akan terisi dengan ion kalsium dan fosfat, serta hanya akan diisi ion mineral yang memiliki jari-jari ion yang sama dengan jari-jari ion mineral yang hilang (Widyaningtyas *et al*., 2014).

Menurut Komariah dan Alamsyah (2015) kalsium dalam bentuk nano partikel menyebabkan reseptor cepat masuk ke dalam jaringan sehingga dapat dimanfaatkan tubuh dengan baik. Prayitno *et al* (2020) melakukan uji SEM untuk melihat perbedaan morfologi kristal kalsium oksida dan nano kalsium oksida dari cangkang telur bebek. Kalsinasi kalsium oksida menunjukan morfologi yang teratur dengan

ukuran partikel yang tidak seragam, sedangkan pada nano kalsium oksida mempunyai morfologi yang teratur dengan ukuran partikel yang seragam, sehingga memudahkan partikel tersebut berpenetrasi dengan maksimal ke dalam enamel yang mengalami mikroporositas. Pada penelitian ini kita akan meneliti perbedaan efektivitas dari kalsium nano partikel dan mikro partikel yang diekstrak dari cangkang telur bebek untuk proses remineralisasi enamel.

Ajaran islam juga menganjurkan untuk menjaga kesehatan gigi dan mulut, ada beberapa ulama yang mengatakan bahwa disunahkan untuk membersihkan gigi/ bersiwak sebelum melakukan sholat. Sebagaimana sabda Rasulullah SAW :

لَوْلَا أَنْ أَشُقَّ عَلَى أُمَّتِي أَوْ عَلَى النَّاسِ لَأَمَرْتُهُمْ بِالسِّوَاكِ مَعَ كُلِّ صَلَاةٍ

Artinya: "Diriwayatkan dari Abu Hurairah, katanya Nabi SAW telah bersabda "Sekiranya arahanku tidak akan memberatkan orang mukmin, niscaya aku akan memerintahkan mereka bersiwak (menggosok gigi) setiap kali hendak melakukan shalat"

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana perbedaan pengaruh pengaplikasian gel nano kalsium dan mikro kalsium cangkang telur bebek *(anas platyrhincus domesticus)* terhadap mikroporositas enamel pada proses remineralisasi gigi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pengaplikasian gel nano kalsium dan mikro kalsium cangkang telur bebek *(anas platyrhincus domesticus)* terhadap mikroporositas enamel pada proses remineralisasi gigi

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui mikroporositas enamel setelah aplikasi ekstrak kalsium cangkang telur bebek *(anas platyrhincus domesticus)* dalam bentuk nano partikel pada proses remineralisasi gigi

2. Mengetahui mikroporositas enamel setelah aplikasi ekstrak kalsium cangkang telur bebek *(anas platyrhincus domesticus)* dalam bentuk mikro partikel pada proses remineralisasi gigi

3. Mengetahui mikroporositas enamel setelah aplikasi CPP ACP pada proses remineralisasi gigi

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai tambahan wawasan bagi kedokteran gigi mengenai manfaat ekstrak kalsium dari cangkang telur bebek sebagai agen remineralisasi gigi

2. Mengetahui kemampuan remineralisasi menggunakan partikel dalam bentuk nano

1.4.2 Manfaat Aplikatif

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam bidang kedokteran gigi, dan dapat digunakan dalam masyarakat agar mengurangi resiko terjadinya karies gigi.

2. Memberikan alternatif sebagai salah satu bahan remineralisasi

1.5 Orisinalitas Penelitian

Peniliti	Judul Peneliti	Perbedaan
Asmawati (2017)	Identifikasi senyawa ion organik dalam cangkang telur sebagai bahan remineralisasi gigi	Pada jurnal ini meneliti tentang analisis perbedaan kandungan ion organik pada gigi menggunakan *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS) setelah pengaplikasian hidrogen peroksida dalam durasi waktu yang berbeda (1 jam, 1 jam 30 menit, 2 jam, 2 jam 30 menit, dan 3 jam) dan setelahnya di aplikasikan gel cangkang telur ayam selama 14 hari
Setyawati dan Waladiyah (2019)	Porositas email gigi sebelum dan sesudah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri	Jurnal ini meneliti tentang porositas enamel gigi setelah aplikasi asam fosfat 37%, dan setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam menggunakan SEM
Prayitno, et al (2016)	Sintesis dan karakterisasi nano kalsium oksida dari cangkang telur bebek dengan metode presipitasi	Jurnal ini meneliti tentang sintesis serta karakteristik kalsium oksida dan nano kalsium oksida dari cangkang telur bebek yang dianalisis menggunakan XRD, FTIR, SEM, EDX, dan *particle size analysis*
Mony, et al. (2015)	Pengaruh larutan bubuk cangkang telur ayam pada lesi awal karies di enamel	Jurnal ini meneliti tentang evaluasi potensi remineralisasi lesi pada permukaan enamel menggunakan larutan bubuk cangkang telur ayam
Taher dan Bayoumi (2018)	Remineralisasi lesi awal enamel dengan larutan bubuk cangkang telur ayam vs kalsium fosfat amorf	Jurnal ini meneliti perbandingan efektivitas remineralisasi menggunakan powder cangkang telur ACP
Husyaerry dan Setiawan (2018)	Efektivitas Partikel Nano dalam Pencegahan Karies	Jurnal ini membahas tentang efektivitas dan kemampuan partikel nano dalam pencegahan karies

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

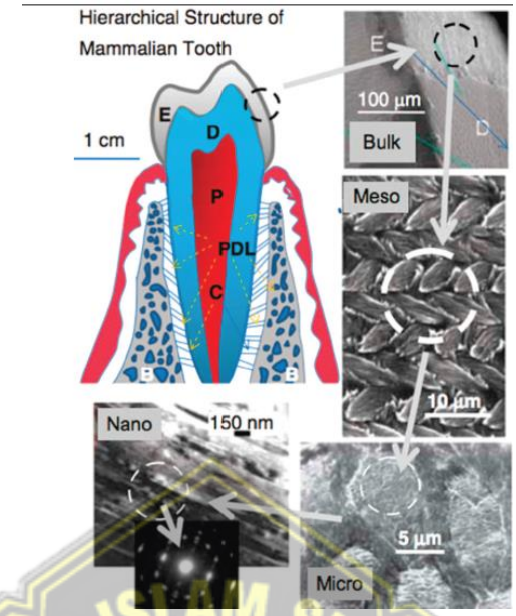
2.1.1 Enamel

2.1.1.1 Komposisi Enamel

Enamel merupakan lapisan terluar pada gigi yang dihasilkan oleh ameloblas, dan merupakan sel epitel, berasal dari organ enamel gigi yang sedang berkembang. Enamel memiliki struktur nano dan tersusun secara unik, serta terdiri dari 96% komponen anorganik serta 4 % sisanya komponen organik berupa air (Jayasudha *et al.*, 2014). Bahan anorganik pada enamel terdiri dari kalsium, phospat dan ion hidroksil dengan formula ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$), dan sisa bahan organik lainnya yaitu CO_3, Mg, Na, K, Fe, Cl, dan Flour sekitar 0,02% (Noviasari *et al*., 2018).

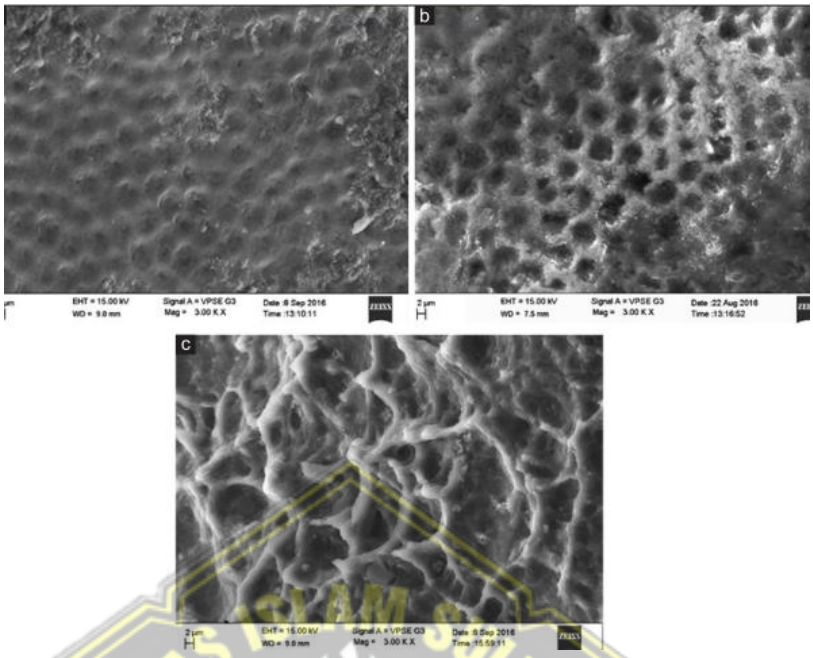
2.1.1.2 Struktur Enamel

Struktur enamel dibagi menjadi beberapa tingkatan dari skala nano hingga skala makro. Pada tingkatan skala nano, enamel terdiri dari susunan kristal hidroksiapatit yang tumbuh di sepanjang sumbu C. Pada tingkat mesoscale, ada tiga komponen struktural. Komponen utama enamel meliputi *rods* (batang), yang merupakan kumpulan kristalit dan mempunyai struktur yang sangat rumit dengan diameter 3-5 μm. Komponen kedua dari matriks enamel adalah *interrod* enamel yang mengelilingi dan melapisi diantara *rods* (batang). Struktur ketiga adalah enamel aprismatik. (Jayasudha *et al.*, 2014).



Gambar 2.1.1.2 Tingkatan struktur enamel terdiri dari: tingkatan nano enamel; tingkatan mesoscale terdiri dari 3 komponen (enamel, matriks enamel, dan enamel aprismatik); dan tingkatan mikro. Enamel (E) Dentin (D) Pulpa (P) Cementum (C) Periodontal ligament (PDL) (Jayasudha *et al.*, 2014)

Dalam penelitian Akasapu *et al* (2018) menemukan 3 pola morfologi yang berbeda dari prisma enamel. Penelitian ini melakukan analisis pada permukaan mesial, distal, labial, lingual, dan oklusal pada gigi permanen anterior dan posterior yang dilihat melalui SEM dengan perbesaran 3000x. Tipe 1- *Shallow prisms* : prisma berbentuk bulat halus yang tersusun secara seragam di permukaan dengan garis tepi prisma. Tipe 2 - *Well defined prisms*: prisma yang tersusun secara seragam dan memiliki cekungan terbuka pada bagian tengah dengan garis tepi prisma berbatas tegas dan juga setinggi permukaan gigi. Tipe 3 – Mikroporositas : prisma besar dan tidak beraturan, memiliki cekungan yang lebar di bagian tengah serta batas tepi yang tidak beraturan. Pada penelitian ini juga mengatakan rata-rata diameter prisma enamel dan *rods* sekitar 4-7 µm.

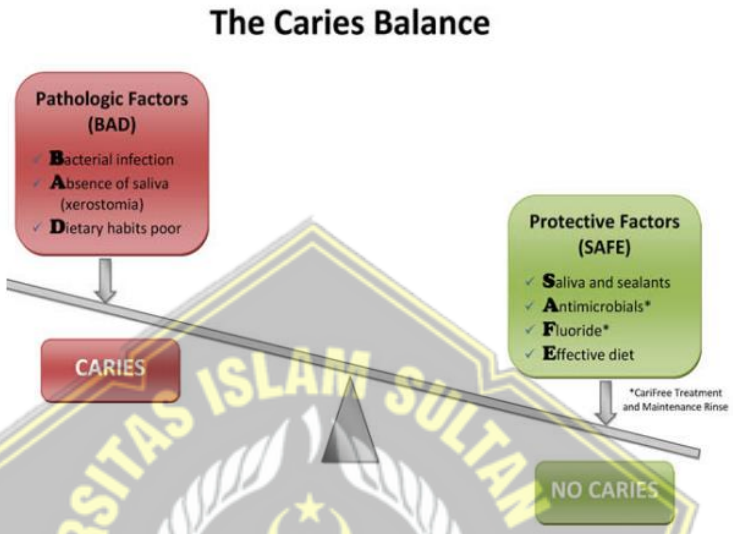


Gambar 2.1.1.2 Tipe prisma enamel (a) *shallow prisms*, (b) *well-defined prisms*, (c) prisma dengan mikroporositas (Akasapu *et all*.,2018)

2.1.2 Karies

Karies gigi merupakan suatu proses patologis kerusakan lokal pada jaringan gigi oleh mikroorganisme. Karies gigi adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri dan dapat menular, serta menyebabkan adanya asam laktat, asam format serta asam propionate yang merupakan produk metabolisme dari bakteri tersebut (*mutans streptococci* dan spesies *lactobacillus*). Bakteri tersebut akan berdifusi ke enamel dan dentin lalu melarutkan mineral. Jika proses ini berlangsung cukup lama atau pH rongga mulut mencapai 5,5 maka akan menyebabkan adanya rongga/kavitas. Ada dua faktor utama penyebab karies pada gigi yaitu faktor langsung dan tidak langsung. Contoh dari faktor langsung adalah inang, agen, mikroorganisme, pola makan, dan waktu, sedangkan faktor tidak langsung adalah

riwayat atau adanya pengalaman karies (Chaudhary dan Tripathi, 2017) (Sayuti *et al.*, 2018).



Gambar 2.1.2. Karies tidak terjadi karena faktor tunggal tapi juga didukung dengan faktor patologi dan faktor protektif (Featherstone, 2006)

Karies gigi berhubungan erat dengan proses demineralisasi. Demineralisasi adalah proses larutnya ion mineral dari hidroksiapatit yang disebabkan oleh tidak seimbangnya pH di dalam rongga mulut, jika proses demineralisasi ini terjadi secara terus menerus maka akan menyebabkan gigi berlubang/ karies (Neel *et al.*, 2016). Permukaan yang tidak teratur dan kekasaran pada enamel atau terbentuknya mikroporositas merupakan salah satu ciri terjadinya proses demineralisasi (Mukarromah *et al.*, 2018). Hediana *et al* (2015) menyebutkan bahwa proses terbentuknya mikroporositas pada enamel dimulai dengan larutnya inti prisma, setelah itu akan terjadi pembesaran ruang pada bagian tepi interprisma lainnya. Hilangnya dari inti prisma ini menyebabkan terbentuknya ruang pada bagian

tengah kristal hidroksiapatit, dimana menyebabkan struktur prisma enamel menjadi tidak teratur dan kasar. Perluasan dan pembesaran ruang hingga mencapai interprismatik akan menyebabkan permukaan enamel mengalami kerusakan yang berbentuk seperti rumah lebah.

2.1.3 Remineralisasi

Remineralisasi adalah proses kembalinya ion kalsium dan fosfor membentuk hidroksiapatit pada enamel. Remineralisasi dapat terjadi jika pH saliva netral serta adanya ion kalsium dan fosfor akan membantu dalam proses remineralisasi (Widyaningtyas *et al*., 2014). Proses remineralisasi akan terjadi jika pH rongga mulut dinetralkan dan terdapat ion kalsium dan fosfat dalam jumlah yang cukup. Adanya ion kalsium dan fosfat dapat mencegah larutnya kristal hidroksiapatit, dan juga dapat juga membangun kembali bagian kristal apatit yang larut karena adanya asam. Mekanisme terjadinya remineralisasi adalah sebagai berikut, ketika pH dalam rongga mulut menurun, ion asam akan bereaksi dengan fosfat pada saliva dan plak, hingga mencapai pH kritis disosiasi hidroksiapatit pada 5,5. Penurunan pH terjadi secara berkelanjutan maka akan terjadi pelarutan kristal parsial atau penuh. Fluoride yang tersimpan akan dilepaskan pada proses ini serta bereaksi dengan kalsium dan fosfat membentuk fluoro apatit, dan jika pH turun hingga mencapai 4,5 dimana merupakan pH kritis untuk kelarutan fluoro apatit, maka fluoro apatit akan larut. Jika ion asam tersebut dinetralkan dan adanya ion fosfat dan kalsium maka kelarutan tersebut dapat ditahan, dan terjadi proses remineralisasi (Rahayu, 2013).

Selain pH saliva yang netral dan adanya ion kalsium dan fosfor remineralisasi juga dipengaruhi oleh waktu, konsentrasi dan viskositas ion-ion pendukung remineralisasi (Puspitasari *et al*., 2018). Ada beberapa persyaratan material yang ideal untuk remineralisasi yaitu, dapat berdifusi serta dapat mengantarkan kalsium dan fosfat, tidak memberikan kalsium yang berlebihan, dapat bekerja pada pH yang asam, dan dapat bekerja pada pasien yang mengalami xerostomia. Agen remineralisasi telah diklasifikasikan secara luas sebagai berikut

1. Fluoride
2. Agen remineralisasi non fluoride *Alpha tricalcium phosphate (TCP)* dan *beta TCP (β-TCP), Amorphous calcium phosphate*, CPP–ACP, *Sodium calcium phosphosilicate (bioactive glass), Xylitol, Dicalcium phosphate dehydrate (DCPD),* Nano partikel untuk remineralisasi (Nano partikel kalsium fluorida, nanomaterial berbasis kalsium fosfat, Nano partikel HAP , ACP nano partikel, *Nanobioactive glass materials*), *Polydopamine, PA, Oligopeptides, Theobromine, Arginine, Self-assembling peptides, Electric field-induced remineralization* (Arifa *et al., 2019).*

2.1.4 Kalsium

Andrew Joiner *et al*.,2008 mengatakan bahwa pemberian kalsium mempunyai keuntungan dapat meningkatkan kadar kalsium di dalam rongga mulut dan mengurangi adanya asam yang menyebabkan demineralisasi pada enamel serta dapat membantu proses remineralisasi. Pada penelitian ini juga meneliti tentang

perbandingan kelarutan kalsium dalam biofilm pada beberapa pasta gigi, ditemukan bahwa pasta gigi yang mengandung mikro kalsium memiliki tingkat kelarutan yang lebih tinggi. Penelitian tersebut membuktikan bahwa perbedaan ukuran partikel dapat berpengaruh pada proses remineralisasi.

Nanomaterial adalah struktur yang sangat kecil dengan ukuran sekitar 1 nm hingga 100 nm. Sampai saat ini, teknologi nano dan material nano telah banyak digunakan serta tampak pertumbuhan yang signifikan dalam *nanomedicine*. Tiga bidang utama aplikasi nanomaterial ditargetkan khusus pada diagnosis, pemberian obat dan pengobatan regeneratif. Pada bidang kedokteran gigi nano partikel dapat digunakan sebagai pemutih gigi, pelapis pada dental implant, restorasi, agent anti sensitivitas dan pencegahan karies (Carrouel *et al.*, 2020).

Nano kalsium adalah kalsium yang diproduksi menggunakan nanoteknologi membentuk kalsium dengan ukuran yang sangat kecil (nanometer). Nanokalsium sangat efisien untuk dicerna dan masuk ke dalam tubuh karena ukurannya yang sangat kecil. Nano kalsium memiliki ukuran yang sangat kecil sekitar 9 hingga 10 nm yang menyebabkan reseptor cepat masuk dan diserap sempurna oleh tubuh, sehingga penyerapannya ke dalam tubuh mencapai hingga 100% (Aminingsih *et al., 2018)*. Selain mempunyai penyerapan yang sangat baik nano kalsium juga mempunyai daya larut yang sangat tinggi pula. Kemampuan penyerapan nano kalsium dapat mengisi lubang atau mikroporositas yang disebabkan oleh demineralisasi. Ion kalsium yang dibuat dalam bentuk nano partikel memiliki tingkat disosiasi tinggi sehingga memungkinkan terjadi pertukaran materi pada dentin dan pulpa (Meilita *et al.*, 2019). Tetapi ada tiga faktor yang mempengaruhi

kecepatan penetrasi dari ion kalsium yaitu, volume dari larutan remineralisasi atau ion kalsium, kedalam dan besar lesi karies, dan derajat porositas pada lapisan permukaan lesi (Nakashima *et al.*, 2009).

Nano kalsium memiliki sifat retensi yang baik pada permukaan rongga mulut karena mempunyai ukuran koloid. Agar ion kalsium memberikan efek pencegahan karies, maka diperlukan pengiriman kalsium secara terus menerus dengan cara memberikan ion kalsium dengan konsentrasi yang tinggi. Disisi lain, nano kalsium dapat terabsorpsi ke permukaan rongga mulut karena partikelnya yang padat serta mampu secara terus menerus mensuplai ion kalsium ke cairan di rongga mulut dan dapat meningkatkan pH cairan di sekitar lesi enamel. Keuntungan lain dari nano kalsium yaitu mempunyai efek mencegah asam pada saat demineralisasi dengan cara menetralkan asam pada plak di gigi dan selanjutnya mensuplai ion kalsium (Nakashima *et al.*, 2009).

Pada penelitian Komariah dan Alamsyah (2015) mengatakan bahwa kalsium yang dimodifikasi menjadi nano partikel dapat mengoptimalkan kerja dari kalsium, sehingga kalsium mudah untuk di absorbsi dalam tubuh. Pipih *et al* (2012) dalam hasil penelitiannya nano kalsium memiliki bioavailabilitas yang tinggi, dalam waktu 7 menit penyerapan nano kalsium mencapai 63,3%, tingginya bioavailabilitas nano kalsium memberikan banyak keuntungan bagi manusia. Dalam penelitian tersebut juga menyebutkan bahwa nano kalsium memiliki pH yang tinggi sekitar 9,40.

2.1.5 Cangkang Telur Bebek *(anas platyrhincus domesticus)*

Cangkang telur adalah struktur yang mempunyai fungsi untuk melindungi isi telur. Cangkang telur umumnya memiliki tiga lapisan yaitu kutikula, lapisan stratum dan lapisan membran. Kutikula merupakan lapisan yang paling terluar dari cangkang telur yang memiliki ketebalan sekitar 10 mikrometer dan memiliki fungsi melindungi telur dari kelembaban dan mikroorganisme. 9-12% dari berat telur total terdiri atas lapisan kapur (Aminah dan Meikawati, 2016).

Cangkang telur bebek merupakan salah satu sumber kalsium karbonat terdiri sekitar 98,101%. Ada beberapa keuntungan yang didapat jika menggunakan cangkang telur bebek sebagai bahan untuk agen remineralisasi antara lain, jumlahnya melimpah, harga murah, memiliki kandungan kalsium karbonat yang tinggi, mudah membentuk kalsium dan fosfat, biokompatibel, *bioaktif*, tidak beracun, dan salah satu keuntungan terpenting adalah mengurangi limbah cangkang telur dari limbah rumahan dan industri makanan (Tangboriboon dan Suttiprapar, 2016).

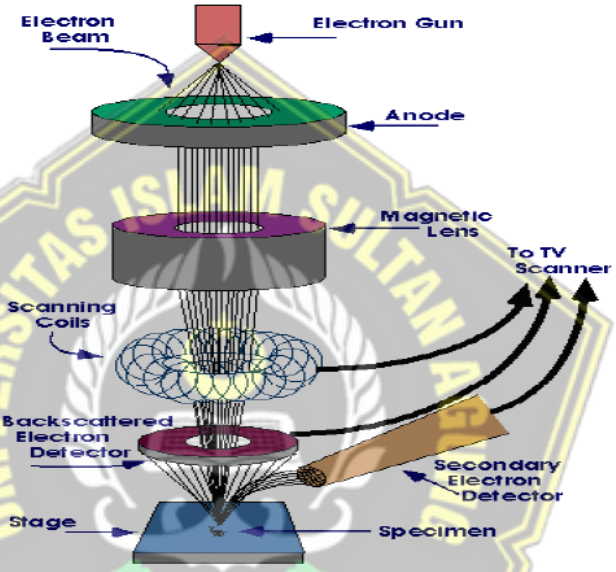
Pada penelitian Yonata *et al* (2017) juga meneliti tentang kadar kalsium pada tepung cangkang telur unggas, didapatkan bahwa cangkang telur bebek memiliki kalsium yang paling tinggi daripada jenis unggas lainnya mencapai sekitar 10.11%, kemudian tepung cangkang telur puyuh 9.46%, ayam ras 6.41%, dan buras 5.22%. Diperkuat dengan penelitian yg dilakukan Aminah dan Meikawati (2016) cangkang telur unggas yang diekstraksi menggunakan aquadest menunjukan kadar kalsium paling tinggi terdapat pada cangkang telur bebek 21,01%, selanjutnya ayam ras 20,50%, puyuh 18,84% dan, ayam buras 16,54%.

2.1.6 Scanning electron microscope (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah salah satu instrumen yang paling sering digunakan di laboratorium penelitian dan merupakan alat untuk melihat sesuatu secara mikrostruktural. *Scanning Electron Microscope* (SEM) memberikan informasi berkaitan dengan fitur topografi, morfologi, perbedaan komposisi, struktur kristal, orientasi kristal dan berbagai lokasi dengan defek. *Scanning Electron Microscope* (SEM) memiliki perbesaran 300 kali dari mikroskop cahaya (Priya *et al*., 2017). Keuntungan dari SEM yaitu dapat melihat objek tiga dimensi secara terperinci dan topografi yang terperinci. *Scanning Electron Microscope* (SEM) juga mudah dioperasikan dan adanya kemajuan dalam teknologi komputer dan perangkat lunak semakin memudahkan pengoperasian SEM. Selain itu kemajuan dalam bidang teknologi dalam SEM modern memungkinkan mengakses data melalui bidang digital (Choudhary dan Priyanka, 2017).

Cara pengamatan menggunakan SEM yaitu sebagai berikut, yang pertama dilakukan adalah preparasi sampel, yaitu pemotongan sampel sesuai orientasi yang diinginkan, selanjutnya adalah fiksasi sampel dengan tujuan agar menjaga sampel pada struktur aslinya dan agar tidak mudah hancur, dehidrasi yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air pada sampel, pengeringan yang bertujuan untuk menghilangkan kandungan cairan dari sampel tetapi tetap menjaga struktur sampel supaya tidak rusak, serta yang terakhir adalah melapisi dengan lapisan konduktif biasanya menggunakan sputtering machine dengan material konduktif yang biasanya digunakan adalah C, Au, Pt . Setelah itu sampel dapat ditempatkan pada holder yang berada di dalam chamber, selanjutnya dapat memulai pengamatan

dengan pengendalian menggunakan komputer. Operator SEM dapat menyesuaikan perbesaran yang diinginkan serta menentukan daerah yang akan dipindai menggunakan controller, lalu sinar dapat difokuskan dimana sampel ditempatkan setelah semua sudah sesuai kita dapat mengklik capture untuk mengambil gambar (Choudhary dan Priyanka, 2017) (Adhika *et al.*, 2019).

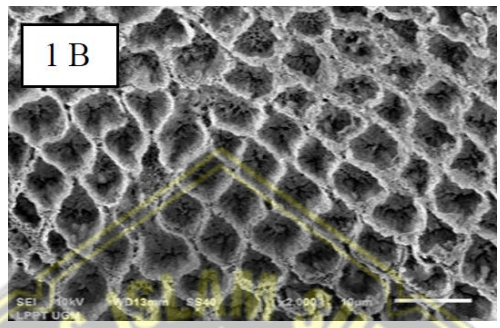


Gambar 2.1.6. SEM (Priya *et al.*, 2017)

Komponen utama pada SEM, yaitu electron gun yang fungsinya adalah membangkitkan berkas elektron, lensa elektromagnetik untuk mengkondisikan berkas elektron, dan detektor untuk beberapa jenis berkas yang berbeda (Adhika *et al.*, 2019)

Cara menganalisa ukuran diameter mikroporositas enamel dari hasil gambar SEM dapat menggunakan software image J, dimana data digital hasil karakterisasi menggunakan SEM diolah lebih lanjut sehingga didapatkan distribusi ukuran sebuah partikel tersebut. (Kurniawan et all., 2011). Cara membaca keterangan hasil

gambar SEM yang biasanya tertera dibawah gambar yaitu sebagai berikut, *high voltage* (HV) dengan satuan kV, *spot size*, *work distance* (WD), dan keterangan perbesaran gambar tersebut yang biasanya ditulis dengan keterangan *magnification* (mag) (Sujatno *et al.*, 2017).



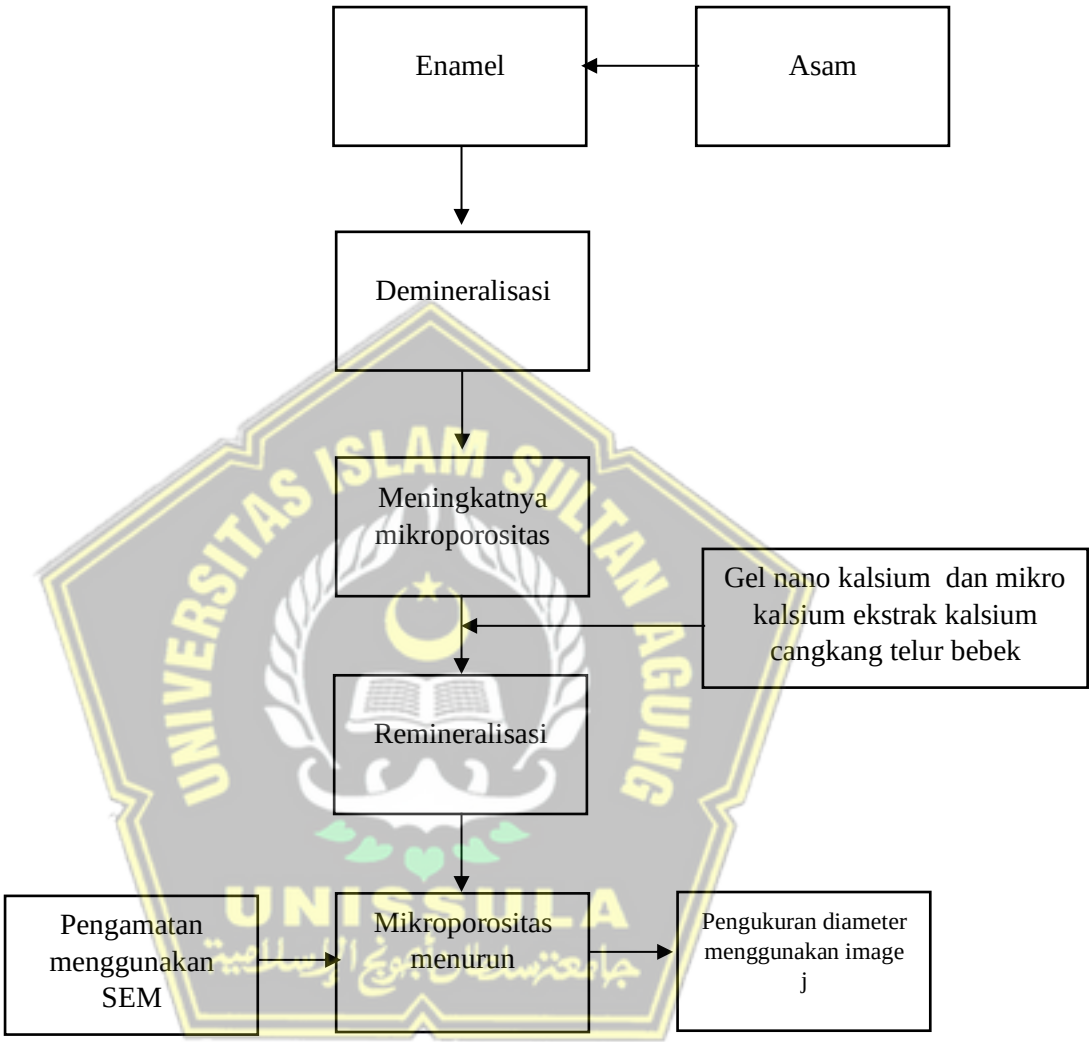
Gambar 2.1.6. Permukaan enamel gigi yang dilihat menggunakan SEM (Setyawati dan Silviana, 2019)

2.1.7 *Image J*

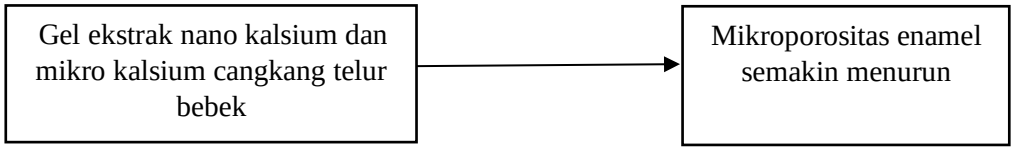
Image J adalah suatu software yang digunakan untuk menganalisis ukuran partikel dari suatu gambar SEM, pengolahan gambar digital ini dibuat oleh Wayne Rasband dari Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA. *Image J* dapat mengolah data digital hasil karakterisasi menggunakan SEM sehingga nantinya didapatkan distribusi ukuran sebuah partikel. Cara penggunaan *image J* adalah sebagai berikut, pertama yang harus dilakukan untuk menganalisis ukuran sebuah partikel dari suatu gambar SEM yaitu mengkalibrasi ukuran pixel gambar dengan ukuran acuan. Penggunaan *Image-J* untuk analisis partikel membutuhkan definisi bagian gambar yang didefinisikan sebagai benda / partikel dan bagian gambar yang didefinisikan sebagai *background* yang disebut sebagai segmentasi gambar. Hal ini dapat dilakukan dengan cara

Image > *Adjust* > *Threshold*. Dengan mengatur *level Threshold* maka dapat diatur tingkat kecerahan gambar untuk definisi benda / partikel dan latar belakangnya. Setelah selesai melakukan penyesuaian *Threshold* maka pengukuran besar / luas partikel yang dimaksud dapat dilakukan fitur analisis partikel dalam *Image-J*. Analisis partikel dalam *Image-J* dilakukan dengan cara klik *Analyze* > *Set Measurements* untuk menentukan keluaran apa saja yang dikehendaki dalam analisis partikel. Kemudian analisis partikel dilakukan dengan klik *Analyze* > *Analyze Particle* (Kurniawan *et al*, 2011)

2.2 Kerangka Teori



2.3 Kerangka Konsep



2.4 Hipotesis

Pemberian gel ekstrak kalsium cangkang telur bebek *(anas platyrhincus domesticus)* dalam bentuk nano partikel dan mikro membuat mikroporositas pada enamel semakin menurun.

BAB III

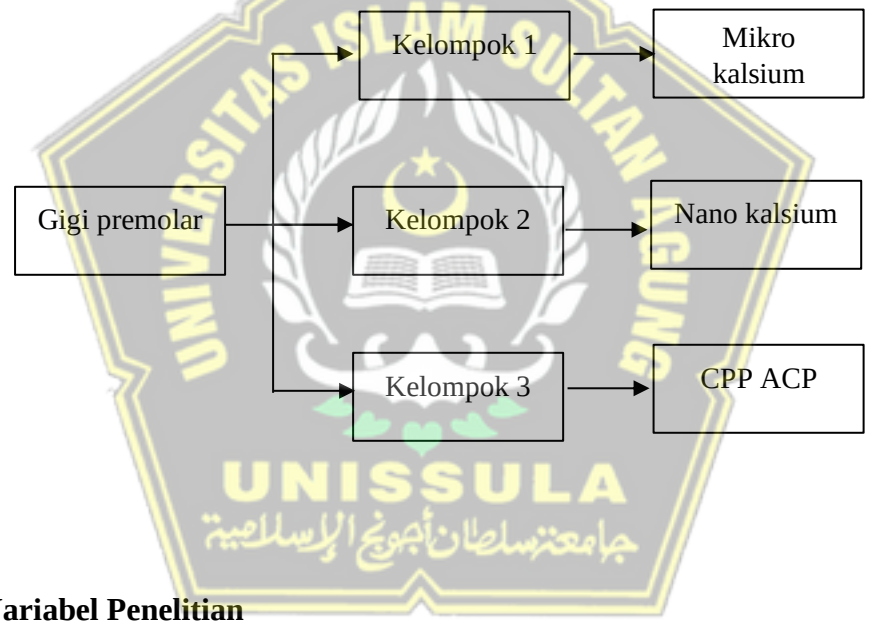
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan eksperimental murni dengan *post test only control design*



3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah mikroporositas enamel

3.3.2 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah gel nano kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek dan gel mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah prosedur penelitian dan cara pengaplikasian gel ekstrak kalsium cangkang telur pada sampel penelitian

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Mikroporositas

Mikroporositas adalah terbentuknya pori-pori kecil pada permukaan enamel yang karena proses demineralisasi dan dapat dilihat dengan menggunakan SEM dengan perbesaran 5000x serta diameter mikroporositas dihitung menggunakan *image J* (Sa'adah *et al.*, 2017).

3.4.2 Gel nano kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek

Sebuah sediaan yang terbuat dari ekstrak kalsium cangkang telur yang dikalsinasi, dan melalui proses rendeman untuk menghasilkan nano partikel, serta dibuat sediaan dalam bentuk gel

3.4.3 Gel mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek

Sebuah sediaan yang terbuat dari ekstrak kalsium cangkang telur yang dikalsinasi, dan melalui proses rendeman untuk menghasilkan mikro partikel, serta dibuat sediaan dalam bentuk gel

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Teknik Sampel

Pengambilan sampel menggunakan simple random sampling

3.5.2 Besar Sampel

Penentuan jumlah sampel yang akan dilakukan penelitian menggunakan rumus (Daniel, 2013)

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

keterangan

n = jumlah sampel minimum

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan d = σ = 0,1

z = konstanta, jika α = 0,05, maka z = 1,96

Dari rumus diatas didapat jumlah sampel yang diperlukan yaitu

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

$= (1{,}96)^2 (0{,}1)^2 / (0{,}1)^2$

$= 3{,}84 \infty 4$

Berdasarkan hasil perhitungan diatas didapatkan jumlah sampel per kelompok adalah 4 untuk setiap kelompok.. Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok, kelompok pertama yaitu perlakuan menggunakan ekstrak kalsium cangkang telur bebek dalam bentuk mikro partikel, kelompok kedua perlakuan menggunakan ekstrak kalsium cangkang telur bebek dalam bentuk nano partikel, dan kelompok ketiga sebagai kelompok kontrol yang diberi perlakuan menggunakan CPP-ACP. Jadi jumlah sampel yang diperlukan pada penelitian ini sebanyak 12 gigi.

3.6 Kriteria Inklusi dan Kriteria Eksklusi

a. kriteria inklusi

- gigi premolar pertama dan kedua yang telah diekstraksi tidak lebih dari satu bulan
- gigi dengan struktur mahkota yang utuh

- gigi yang tidak mengalami anomali (malformasi perkembangan gigi dan diskolorasi, seperti: dysplasia enamel dan dentin)

b. kriteria eksklusi

- gigi yang terdapat restorasi
- gigi dengan karies
- gigi fraktur

3.7 Instrumen Penelitian

Alat **:**

a. Oven
b. *Scanning Electron Microscope* (SEM) Hitachi Flexsem 1000
c. Handpiece
d. Baskom
e. Mortar
f. *Microbrush*
g. *Carborundum disc.*
h. Ayakan 100 mesh
i. Pot obat
j. Kertas saring
k. Gelas beaker
l. Pengaduk

Bahan :

a. Gigi premolar
b. Kubus malam merah dengan ukuran 2x2x2

c. Ekstrak nano dan mikro kalsium cangkang telur bebek
d. CMC-Na
e. Trietanolamin
f. Nipagin
g. Propylene Glycol
h. Pumice
i. CPP-ACP
j. Aquades
k. HCl 2N
l. NaOH 3N
m. *Saliva artificial*
n. *Hank's balanced salt solution*

3.8 Cara Penelitian

3.8.1 Ethical Clearance

Pengajuan permohonan ijin penelitian kepada Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang

3.8.2 Persiapan sampel dan bahan

Mempersiapkan bahan bahan yang akan digunakan untuk melakukan penelitian dan menyiapkan sampel penelitian. Gigi premolar yang sudah dikumpulkan sebanyak 18 buah dibersihkan menggunakan alkohol, dan disimpan pada pot obat yang terbuat dari kaca dan di rendam dengan *hank's balanced salt solutions* sebelum diberi perlakuan. Untuk

menyiapkan sampel yang pertama yaitu bersihkan bersihkan sampel supaya terbebas dari debris dan kalkulus menggunakan pumice dan dicuci dibawah air mengalir. (Asmawati, 2017). Sampel yg sudah dibersihkan dipotong pada bagian *cemento-enamel junction* (CEJ) dengan ukuran maksimal 1 x 1 cm atau sekitar 10mm x 10mm menggunakan carborundum disc (Setyawati dan Waladiyah, 2019). Lalu bedakan sampel penelitian menjadi 3 kelompok, kelompok pertama akan diberi perlakuan menggunakan ekstrak kalsium cangkang telur bebek dalam bentuk mikro partikel, kelompok kedua akan diberi perlakuan menggunakan ekstrak kalsium cangkang telur bebek dalam bentuk nano partikel, dan kelompok ketiga sebagai kelompok kontrol dengan diberi perlakuan menggunakan CPP-ACP.

3.8.3 Rendemen menggunakan HCl

Siapkan cangkang telur bebek lalu bersihkan dibawah air mengalir, lalu pisahkan cangkang telur dengan membrannya. Setelah itu keringkan cangkang telur pada temperatur ruangan (Nurlaela *et al.*, 2014). Selanjutnya cangkang telur yang telah dikeringkan dihancurkan dengan alat mortar sehingga menjadi tepung lalu disaring menggunakan ayakan 100 mesh. Pembuatan partikel berbentuk nano ambil tepung cangkang telur sebanyak 12,5 g diekstraksi menggunakan 250 mL HCl 2N pada suhu 90^{o} selama 2 jam hasil ekstraksi selanjutnya disaring menggunakan kertas saring sehingga akan diperoleh filtrat. Lalu filtrat tersebut dipresipitasi dengan penambahan 250 mL NaOH 3N masukan setetes demi setetes setelah itu diaduk dan didiamkan sampai tidak ada endapan lagi. Endapan tersebut

kemudian dipisahkan dengan cara dekantasi dan disaring. Endapan tersebut selanjutnya dilakukan netralisasi menggunakan aquades sampai pH 7. Tahap selanjutnya yaitu endapan tersebut dikeringkan dengan oven pada suhu 100^{o} C. Lakukan hal yang sama untuk pembuatan mikro partikel tetapi tidak perlu diayak menggunakan mesh 100 dan saat ekstraksi menggunakan HCl 250 mL HCl 3N pada suhu 90^{o} hanya selama 1 jam (Sunardi *et al*.,2020)

Menurut penelitian yang dilakukan (First *et al.*, 2019) lama ekstraksi dengan HCl dapat mempengaruhi bentuk partikel. Partikel dapat dikatakan nano jika berukuran sekitar 1-100 nm (Aminingsih *et al*., 2018).

3.8.4 Kalsinasi cangkang telur bebek

Setelah dilakukan rendemen dengan HCl dan bubuk cangkang telur sudah kering, kemudian kalsinasi bubuk cangkang telur bebek pada suhu 1000^{o}C selama 5 jam untuk menghilangkan komponen organik dan mengubah kalsium karbonat menjadi kalsium oksida (Nurlaela *et al.*, 2014).

3.8.5 Pembuatan gel nano kalsium dan mikro kalsium

Cara pembuatan gel nano kalsium ekstrak cangkang telur dimulai dengan mencampurkan 2 gram Trietanolamin, 2 gram propylene glycol, dan 0,2 gram nipagin lalu masukan kedalam gelas beaker dan aduk hingga homogen. Setelah itu tambahkan 3 gram CMC-Na. Setelah basis gel jadi, campurkan 320 gram basis gel dan 80 gram bubuk nano partikel cangkang telur bebek. Sedangkan untuk pembuatan gel ekstrak mikro kalsium cangkang telur bebek sama, hanya saja bubuk yang dicampur adalah bubuk

mikro partikel cangkang telur bebek yang dihasilkan pada proses rendeman sebelumnya (Mardjuni, 2019).

3.8.6 Pembuatan lesi demineralisasi

Pengolesan sampel menggunakan etsa 37% selama 60 detik untuk membuat mikroporositas pada permukaan gigi, selanjutnya sampel dicuci dan dikeringkan untuk diberi perlakuan dengan menggunakan agen remineralisasi (Setyawati dan Waladiyah, 2019).

3.8.7 Pengaplikasian gel nano kalsium dan mikro kalsium dari ekstrak cangkang telur bebek serta CPP-ACP

Sebelum diberi perlakuan sampel dimasukkan ke dalam kubus malam merah dengan ukuran 2x2x2 yang telah diberi label. Masing-masing kubus berisi satu gigi. Kelompok pertama diberi perlakuan dengan aplikasi gel mikro kalsium cangkang telur bebek dengan cara mengoleskan gel menggunakan microbrush pada bagian bukal gigi, kelompok kedua diberi perlakuan dengan aplikasi gel nano kalsium cangkang telur bebek dengan cara mengoleskan gel menggunakan microbrush pada bagian bukal gigi serta kelompok ketiga yaitu kelompok kontrol diberi perlakuan dengan aplikasi CPP-ACP dengan cara mengoleskan pasta CPP-ACP menggunakan microbrush pada bagian bukal gigi. Masing-masing kelompok dilakukan pengaplikasian agen remineralisasi selama 7 hari, dua kali sehari selama 3 menit diikuti dengan inkubasi dalam saliva buatan pada suhu 37 ° C (Chaudhary dan Tripathi, 2017).

3.8.8 Pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Di hari ke-7, sampel dicuci menggunakan larutan saline sampai bersih setelah itu gigi tersebut ditempatkanpada pot obat yang terbuat dari kaca untuk dibawa ke tempat pengamatan untuk diamati dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) Hitachi Flexsem 1000 perbesaran 5.000x pada permukaan bagian bukal, diameter porositas enamel diukur menggunakan aplikasi image J. (Ramadhani dan Hidayati, 2017) (Setyawati dan Silviana, 2019).

Cara pengamatan menggunakan SEM yaitu sebagai berikut, tahapan utama adalah melakukan preparasi pada sampel, salah satunya dengan pemotongan sampel sesuai dengan orientasi yang diinginkan, setelah itu sampel dapat ditempatkan pada holder yang berada di dalam chamber, selanjutnya dapat memulai pengamatan dengan pengendalian menggunakan komputer. Operator SEM dapat menyesuaikan perbesaran yang diinginkan serta menentukan daerah yang akan dipindai menggunakan controller, lalu sinar dapat difokuskan dimana sampel ditempatkan setelah semua sudah sesuai kita dapat mengklik capture untuk mengambil gambar (Choudhary dan Priyanka, 2017) (Adhika *et al.*, 2019).

3.9 Tempat dan Waktu

3.9.1 Tempat

1. Laboratorium SEM Departemen Teknik Mesin Institut Teknologi Sepuluh November

2. Laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

3. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

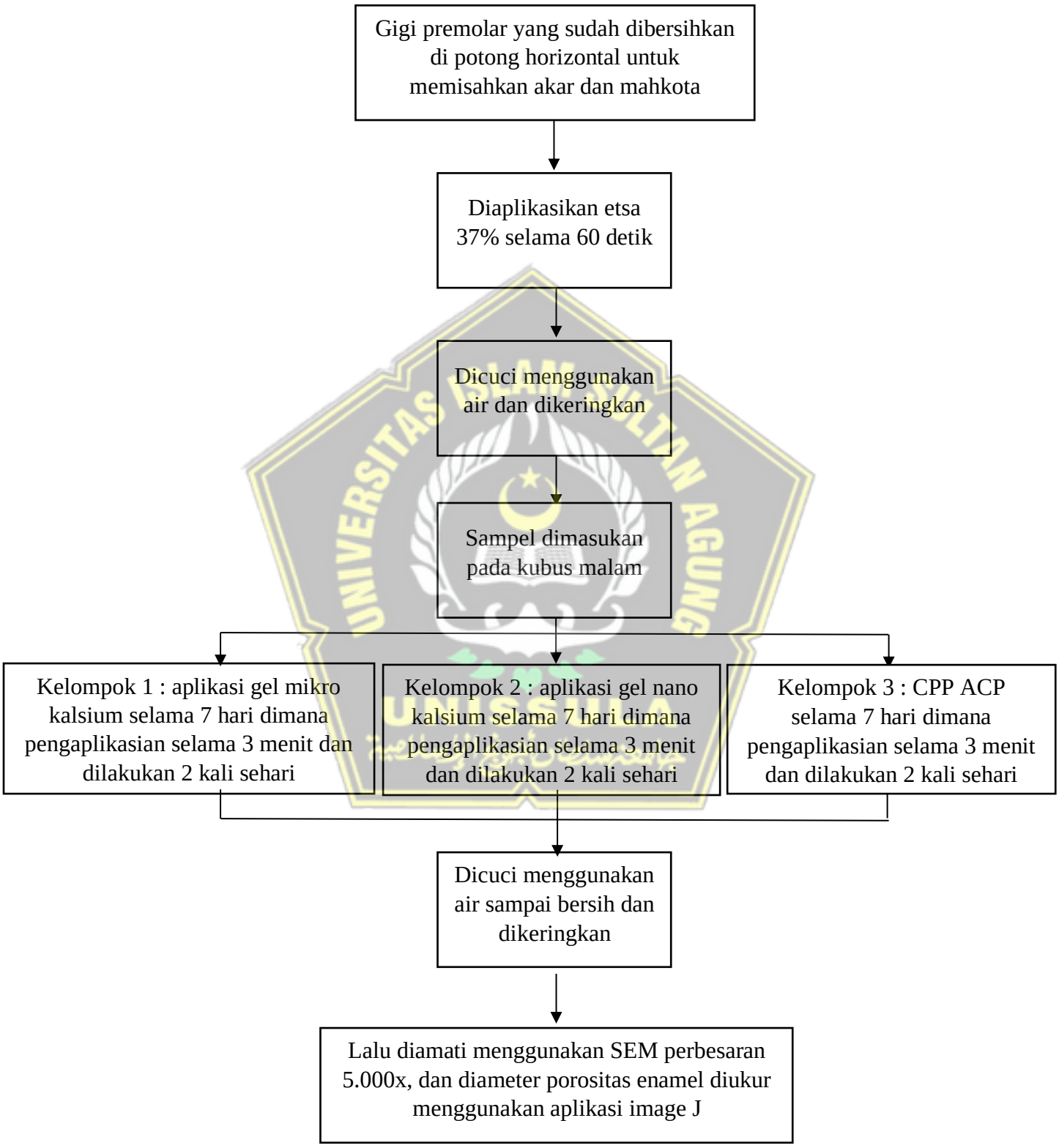
3.9.2 Waktu

Penelitian dilakukan bulan oktober-desember 2021

3.10 Analisis Hasil

Analisa hasil untuk mengetahui perbedaan pengaruh pengaplikasian gel ekstrak nano kalsium dan makro kalsium dari cangkang telur bebek *(anas platyrhincus domesticus)*, terhadap remineralisasi enamel yang diperoleh dari pengukuran dan pengamatan pada subjek penelitian berupa data kuantitatif rasio dan kualitatif berupa gambaran bentuk mikroporositas yang didapatkan dari pengamatan menggunakan SEM dan pengukuran diameter menggunakan aplikasi image J. dilakukan uji normalitas data dengan uji *saphiro wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50 dan uji homogenitas dengan *levene test*. Setelah diketahui uji tersebut berdistribusi normal dan homogen lalu dilakukan uji *oneway Anova.* Jika hasil tidak berdistribusi normal dapat menggunakan uji Kruskal Wallis

3.11 Alur Penelitian

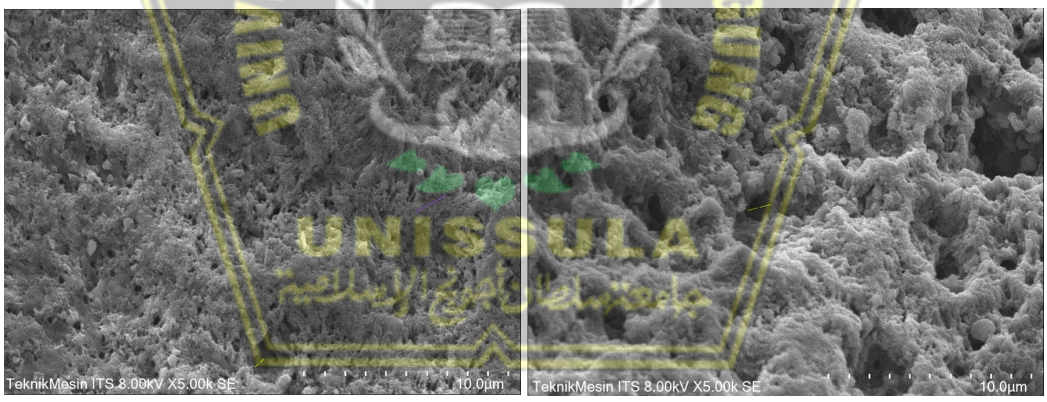


BAB IV

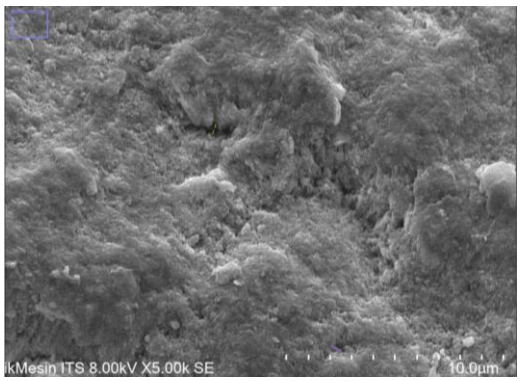
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Data hasil penelitian ini merupakan data kuantitatif rasio berupa diameter mikroporositas enamel, dan topografi permukaan enamel setelah aplikasi gel mikro kalsium dan nano kalsium ekstrak cangkang telur bebek *(anas platyrhincus domesticus)* 20%, serta setelah aplikasi CPP ACP selama 7 hari dimana dilakukan pengaplikasian sebanyak 2 kali sehari pada ke 3 kelompok. Data pengukuran diameter mikroporositas didapatkan dengan menggunakan *image J* serta untuk penilaian topografi permukaan enamel dilakukan pengamatan secara visual, yang dilihat menggunakan SEM, dengan hasil sebagai berikut :



(a) (b)



(c)

Gambar 4.1 Gambaran SEM perbesaran 5000x topografi permukaan enamel setelah aplikasi (a) gel ekstrak mikro kalsium cangkang telur bebek (b) gel ekstrak nano kalsium cangkang telur bebek (c) CPP ACP

Gambar topografi permukaan enamel setelah perlakuan dengan gel ekstrak mikro kalsium cangkang telur bebek gambar 4.1 (a) memiliki topografi permukaan yang lumayan halus karena adanya proses remineralisasi, tetapi masih terlihat adanya kerusakan pada permukaan enamel, dan masih terlihat adanya porus porus kecil. Pada gambar 4.1 (b) dapat dilihat topografi permukaan enamel yang kasar, adanya cekungan atau porositas pada permukaan enamel yang disebabkan karena proses demineralisasi oleh etsa 37%, serta adanya daerah gelap terang pada gambaran permukaan enamel yang menunjukan kedalaman dari mikroporositas enamel. Lalu kelompok perlakuan dengan CPP ACP gambar 4.1 c memiliki topografi permukaan yang halus, serta remineralisasi hampir menutupi sebagaian permukaan enamel, tetapi masih terlihat adanya sedikit kerusakan pada enamel serta daerah yang tidak rata.

Hasil dari pengukuran rata-rata diameter mikroporositas terhadap masing-masing kelompok diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4.1 Rata-rata diameter mikroporositas pada ketiga kelompok

Kelompok	**Diameter Mikroporositas (µm)**
	Mean ± Std.Deviasi
Kelompok mikrokalsium	0,9764 ± 0,25766
Kelompok nanokalsium	1,9286 ± 1,04894

Kelompok CPP ACP	1.3235 ± 0,88780

Berdasarkan dari tabel 4.1 hasil perhitungan diameter mikroporositas enamel diketahui pada kelompok perlakuan dengan gel mikro kalsium memiliki diameter terkecil dengan nilai 0,9764 µm, dan pada perlakuan menggunakan gel nanokalsium memiliki nilai diameter teritinggi yaitu 1,9286 µm.

Data hasil diameter mikroporositas enamel kemudian dilakukan uji normalitas. Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* karena sampel yang digunakan kurang dari 50 sampel. Hasil pengujian normalitas data sebagai berikut:

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas data *Saphiro-Wilk*

	Kelompok	*Shapiro-Wilk*
		Sig.
Diameter mikroporositas (µm)	Mikro kalsium	.445
	Nano kalsium	.186
	CPP ACP	.717

Berdasarkan hasil dari tabel 4.2, hasil uji normalitas pada ketiga kelompok diperoleh data berdistribusi normal dengan p (sig>0,05), jadi dapat disimpulkan bahwa semua data dari ketiga kelompok berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan *Levene Test*, dengan hasil sebagai berikut :

Tabel 4.3 Hasil uji homogenitas dengan Levene Test

Levene Test	Nilai P	Keterangan
Diameter Mikroporositas	.002	Data tidak homogen

Berdasarkan hasil tabel 4.3, hasil uji homogenitas dengan nilai p 0,002 bahwa p < 0,05, maka varian data tidak homogen.

Tabel 4.4 Anova

Anova	Nilai P	Keterangan
Diameter Mikroporositas	.081	Perbedaan tidak signifikan

Berdasarkan tabel Anova diatas ditemukan hasil p 0.081 yang berarti p > 0,05, jadi dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan sehingga tidak perlu dilakukan uji post hoc.

4.2 Pembahasan

Dari penelitian ini, dapat dibuktikan bahwa gel ekstrak nanokalsium cangkang telur bebek memiliki kemampuan remineralisasi yang kurang baik, karena dapat dilihat pada gambar 4.1 (b), pada kelompok perlakuan gel ekstrak nanokalsium cangkang telur bebek memiliki permukaan yang paling kasar daripada kedua kelompok lainnya. Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan (Rahardjo *et al.*, 2015) bahwa pasta gigi yang mengandung nano kalsium berpotensi lebih meningkatkan remineralisasi pada enamel. Karena nano kalsium memiliki sifat retensi yang baik pada permukaan gigi karena ukuran koloidnya, dan

kemampuannya dalam mengirimkan kalsium. Disisi lain nano kalsium berpenetrasi ke permukaan gigi dalam bentuk solid partikel yang mampu terus menerus memasok ion kalsium ke cairan di sekitar rongga mulut karena pelepasan ion kalsium nya yang lambat. Nano kalsium juga memiliki kemampuan meningkatkan pH cairan di sekitar rongga mulut.

Pada kelompok perlakuan menggunakan gel ekstrak mikro kalsium cangkang telur bebek (gambar 4.1 a), dimana permukaanya terlihat sedikit lebih halus jika dibandingan dengan kelompok perlakuan menggunakan gel ekstrak nano kalsium cangkang telur bebek (gambar 4.1 b). Hal ini juga berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Prayitno *et al*., 2020 yang meneliti mengenai perbedaan morfologi kristal kalsium oksida dan nano kalsium oksida dari cangkang telur bebek menggunakan SEM, dimana didapatkan kalsium oksida memiliki morfologi yang seragam tetapi memiliki ukuran kristal yang tidak seragam, sedangkang nano kalsium oksida memiliki morfologi yang seragam dengan ukuran yang seragam. Dimana seharusnya nano kalsium memiliki kemampuan remineralisasi dan penetrasi yang lebih baik daripada mikro kalsium.

Berdasarkan dari penelitian ini, selisih antara kelompok perlakuan tidak memiliki perbedaan hasil ukuran diameter mikroporositas yang signifikan. Diameter mikroporositas yang terkecil dimiliki oleh kelompok aplikasi menggunakan mikro kalsium ekstrak cangkang telur bebek, jika dilihat dari topografi permukaan enamel terlihat permukannya sedikit lebih halus (gambar 4.1 a) dibandingkan dengan gambaran permukaan enamel setelah aplikasi gel nano kalsium cangkang telur bebek (gambar 4.1 b). Dan mikroporositas tertinggi dimiliki

oleh kelompok perlakuan dengan nanopartikel, jika dilihat dari topografi permukaan enamel, memiliki permukaan yang kasar dan porus/cekungan yang terlihat lebih besar (gambar 4.1 b). Kedua kelompok tersebut memiliki kemampuan yang sama untuk remineralisasi, hal ini dikarenakan cangkang telur memiliki jumlah kalsium yang tinggi, dimana kalsium dapat membantu dari proses remineralisasi, (Asmawati, 2017). Diperkuat dengan penelitian Setyawati dan Silviana, 2019, yang meneliti mengenai pangaruh pasta cangkang telur ayam negeri yang diambil hidroksiapatitnya terhadap email gigi. Gigi dilakukan pengaplikasian menggunakan pasta cangkang telur ayam selama 30 menit setiap harinya yang dilakukan selama 14 hari serta kemudian dilakukan pengamatan kembali menggunakan SEM. Didapatkan hasil gambaran topografi permukaan enamel setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam, terlihat berkurangnya kekasaran dan porositas, serta beberapa porositas yang menutup dengan terlihatnya permukaan yang halus dikarenakan adanya proses remineralisasi oleh pasta cangkang telur ayam.

Pada kelompok perlakuan dengan CPP ACP juga memiliki topografi permukaan yang halus tetapi masih terlihat sedikit permukaan yang bergelombang serta porus yang kecil pada permukaan enamel, dan remineralisasi sudah hampir menutupi sebagaian permukaan enamel. Hal ini sejalan teori yang dipaparkan oleh Rachmawati *et al.*, 2019 bahwa CPP ACP dapat meningkatkan remineralisasi karena memiliki kandungan ion kalsium dan fosfat yang akan dilepaskan saat CPP ACP telah masuk ke sub permukaan melalui porus pada enamel, nantinya ion kalsium dan fosfat akan mengendap di dalam enamel rod. Selain melepaskan ion

kalsium dan fosfat CPP juga memiliki kemampuan mengikat kristal apatit sehingga meningkatkan proses remineralisasi pada enamel

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi kelompok aplikasi menggunakan gel ekstrak nano kalsium cangkang telur bebek memiliki diameter lebih besar dan topografi yang lebih kasar dibandingkan dengan kelompok sampel gel ekstrak mikro kalsium cangkang telur bebek adalah sebagai berikut, faktor pertama bisa dikarenakan penetrasi rate dari ion kalsium kedalam lesi, dimana tergantung pada banyaknya gel saat pengaplikasian pada sampel dan besarnya porositas pada lesi di permukaan enamel. Faktor kedua bisa dipengaruhi oleh lapang pandang SEM saat pengambilan gambar permukaan enamel. Selain itu juga dapat dipengaruhi oleh proses dari remineralisasinya itu sendiri, seperti waktu pengaplikasian agen remineralisasi, supersaturasi larutan terhadap gigi, laju endapan reaktan dan pH larutan. Jika faktor tersebut tidak terpenuhi maka proses remineralisasi enamel akan terhambat (Widyaningtyas *et al*., 2014)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa :

1. Tidak terdapat perbedaan diameter yang signifikan antara kelompok perlakuan menggunakan gel ekstrak mikro kalsium dan nano kalsium cangkang telur bebek serta CPP ACP

2. Terdapat perbedaan kekasaran dan banyaknya porus pada permukaan enamel pada setiap kelompok perlakuan dengan menggunakan gel ekstrak mikro kalsium dan nano kalsium cangkang telur bebek serta CPP ACP

3. Gel nano kalsium ekstrak cangkang telur bebek, gel mikro kalsium cangkang telur bebek, serta CPP ACP memiliki efek remineralisasi pada enamel.

5.2 Saran

1. Penelitian selanjutnya perlu diperhatikan lapang pandang saat pengambilan gambar SEM

2. Banyaknya aplikasi gel nano kalsium dan mikro kalsium saat perlakuan sampel harus diperhatikan

DAFTAR PUSTAKA

Adhika, D. R. *et al.* (2019) 'Teknik Pengamatan Sampel Biologi Dan Non-Konduktif Menggunakan Scanning Electron Microscopy', pp. 10–11. doi: 10.5614/sniko.2018.8.

Akasapu, A., Hegde, U. and Murthy, P. (2018) 'Enamel surface morphology: An ultrastructural comparative study of anterior and posterior permanent teeth', *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 6(3), p. 160. doi: 10.4103/jmau.jmau_27_18.

Abdiani, I. M. and Sari, D. P. (2015) 'Pemafaatan Kulit Udang dan Cangkang Kepiting Sebagai Bahan Baku Kitosan', *Jurnal Harpodon Borneo*, 8(2), pp. 142–147.

Aminah, S. and Meikawati, W. (2016) 'Calcium Content and Flour Yield of Poultry Eggshell With Acetic Acid Extraction', *Universty Research Coloquium 2016*, 4, pp. 49–53.

Aminingsih, T., Rahayu, S. Y. S. and Yulianita, Y. (2018) 'Formulation of Instant Granule Containing Nano Calcium from the Shell of Freshwater Mussels (Anodonta woodiameina) for Autism Children', *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1), pp. 49–56.

Rahardjo, A. *et al.* (2015) 'Efficacy of Toothpaste Containing Nano Calcium in Dentin Remineralization', *Makara Journal of Health Research*, 19(2), pp. 43–47. doi: 10.7454/msk.v19i2.4604.

Arifa, M. K., Ephraim, R. and Rajamani, T. (2019) 'Recent Advances in Dental Hard Tissue Remineralization: A Review of Literature', *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 12(2), pp. 139–144. doi: 10.5005/jp-journals-10005-1603.

Asmawati, A. (2017) 'Identification of inorganic compounds in eggshell as a dental remineralization material', *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 2(3), p. 168. doi: 10.15562/jdmfs.v2i3.622.

Carrouel, F. *et al.* (2020) Nanoparticles as anti-microbial, anti-inflammatory, and remineralizing agents in oral care cosmetics: A review of the current situation, Nanomaterials. doi: 10.3390/nano10010140.

Chaudhary, I. and Tripathi, A. M. (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), pp. 261–266. doi: 10.5005/jp-journals-10005-1447.

Choudhary, O. P. and ka, P. (2017) 'Scanning Electron Microscope: Advantages and Disadvantages in Imaging Components', *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), pp. 1877–1882. doi:

10.20546/ijcmas.2017.605.207.

Daniel, W. W. (2013) *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences, 5th Edition., Biometrics*. doi: 10.2307/2532686.

Desneli, D. and Muryani, A. (2019) 'Penatalaksanaan white spot lesion setelah perawatan ortodontik dengan teknik resin infiltration', *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 31(1), pp. 15–21. doi: 10.24198/jkg.v31i1.16901.

E Nuzzolese, M M Lepore, I Cukovic-Bagic, F. M. and Vella, and G. Di (2008) 'Forensic sciences and forensic odontology', *International Dental Journal*, 58(2009), pp. 342–348. doi: 10.1922/IDJ.

Featherstone, J. D. B. (2006) 'Caries prevention and reversal based on the caries balance', *Pediatric Dentistry*, 28(2), pp. 128–132. doi: 10.1016/s0084-3717(08)70447-1.

First, L. *et al.* (2019) 'Sintesis & Karakteristik Nano kalsium Dari Limbah Tulang Ayam Broiler Dengan Metode Presipitasi', *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*, 3(2), pp. 69–73.

Hediana, V. A. K., Probosari, N. and Setyorini, D. (2015) 'Lama perendaman gigi di dalam air perasan jeruk nipis (Citrus aurantifolia Swingle) mempengaruhi kedalaman porositas mikro email (Duration of immersing teeth in lime (Citrus aurantifolia Swingle) juice affects on microporosity depth of enamel)', *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 14(1), p. 45. doi: 10.15562/jdmfs.v14i1.425.

Husyaerry, M. and Setiawan, A. S. (2018) 'Efektivitas Partikel Nano dalam Pencegahan Karies', *Journal of Indonesian Dental Association*, 1(1), pp. 111–113.

Jayasudha *et al.* (2014) 'Enamel Regeneration - Current Progress and Challenges', *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(9), pp. 6–9. doi: 10.7860/jcdr/2014/10231.4883.

Komariah, A. and Alamsyah, N. (2015) 'Pengaruh Pemberian Nano Kalsium dari Eksoskeleton Kepiting Bakau (Scylla sp.) Selama Masa Kebuntingan dan Laktasi terhadap Kekerasan Gigi Tikus (F1)', *Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya*.

Kurniawan, C., Waluyo, T. B. and Perdamean Sebayang (2011) 'Analisis Ukuran Partikel Menggunakan Free Software Image-J', *Seminar Nasional Fisika*, (Juli 2011), pp. 1–9. Available at: https://www.researchgate.net/publication/215445822.

Mardjuni, P. I. A. 2019. Analisisi Efektivitas Substrat dan Gel Tulang Ikan Bandeng (Chanos chanos) Terhadap Kekerasan Enamel Gigi Setelah Aplikasi Hydrogen Peroxide (H2O2) 6% . *Skripsi. Universitas Islam Sultan Agung. Semarang*

Meilita, R. *et al.* (2019) 'Pengaruh Pasta Gigi Dengan Kandungan Nano Kalsium Dan Nano Kitosan Terhadap Kekerasan Permukaan Email', *Prosiding Seminar Nasional Pakar*, 0(0), pp. 1-2.2–1.2.6. Available at: https://trijurnal.lemlit.trisakti.ac.id/pakar/article/view/4138.

Mukarromah, A., Dwiandhono, I. and Imam, D. N. A. (2018) 'Differences in surface roughness of enamel after whey-extract application and CPP-ACP in post extracoronal-tooth bleaching', *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 4(1), p. 15. doi: 10.22146/majkedgiind.26859.

Nakashima, S. *et al.* (2009) 'Effect of a test dentifrice containing nano-sized calcium carbonate on remineralization of enamel lesions in vitro.', *Journal of oral science*, 51(1), pp. 69–77. doi: 10.2334/josnusd.51.69.

Neel, E. A. A. *et al.* (2016) 'Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone', *International Journal of Nanomedicine*, 11, pp. 4743–4763. doi: 10.2147/IJN.S107624.

Noviasari, A. N., Christiono, S. and Hadianto, E. (2018) 'Perbedaan Kekerasan Permukaan Enamel Gigi Desidui Terhadap Pola Konsumsi Ikan Laut Studi Pada Anak Usia 5 – 7 Tahun Di Desa Teluk Awur Dan Desa Jlegong Kabupaten Jepara', *Odonto Dental Journal*, 5(1), pp. 76–79.

Nurlaela, A. *et al.* (2014) 'Pemanfaatan Limbah Cangkang Telur Ayam dan Bebek sebagai Sumber Kalsium untuk Sintesis Mineral Tulang', *Jurnal Pendidikan Fisika Indonesia*, 10(1), pp. 81–85. doi: 10.15294/jpfi.v10i1.3054.

Pipih, S., Agoes, M. and Nani, D. (2012) 'Karakterisasi dan Bioavailabilitas Nanokalsium Cangkang Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei)', *Jurnal Akuatika*, 3, pp. 63–67.

Prayitno, A. H., Prasetyo, B. and Sutirtoadi, A. (2020) 'Synthesis and characteristics of nano calcium oxide from duck eggshells by precipitation method', *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 411(1). doi: 10.1088/1755-1315/411/1/012033.

Priya, A., Singh, A. and Srivastava, N. A. (2017) 'Electron Microscopy – an Overview', *International Journal of Students' Research in Technology & Management*, 5(4), pp. 81–87. doi: 10.18510/ijsrtm.2017.5411.

Puspitasari, A., Adi, P. and Rubai, D. F. (2018) 'Pemanfaatan Cangkang Kerang Darah (Anadara granosa) Dalam Remineralisasi Gigi Sulung', 1(1), pp. 42–46.

Rachmawati, D. *et al.* (2019) 'Efek Remineralisasi Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) terhadap Enamel Gigi Sulung', *E-Prodenta Journal of Dentistry*, 3(2), pp. 257–262.

Rahardjo, A. *et al.* (2015) 'Efficacy of Toothpaste Containing Nano Calcium in Dentin Remineralization', *Makara Journal of Health Research*, 19(2), pp.

43–47. doi: 10.7454/msk.v19i2.4604.

Rahayu, Y. C. (2013) 'Peran Agen Remineralisasi pada Lesi Karies Dini', *Stomatogantic (J. K. G Unej)*, 10(1), pp. 25–30.

Ramadhani, A. and Hidayati, L. (2017) 'Uji Kedalaman Porositas Permukaan Bahan Pit dan Fissure Seal- ant Berbasis Resin Komposit dan Ionomer Kaca Setelah Diren- dam Saliva Buatan pH 5 , 5 (Depth Porosity Test of Surface Materials Pit and Fissure Sealant Based Resin Composite and Glass Ionomer', 5(3).

Rasmidar Samad, Harun Achmad, Burhanuddin DP, Irene R, Mukhlas Ardiansyah, Nisrina, G. A. (2018) 'Influence of Dangke (Cheese Typical Enrekang, South Sulawesi) Consumption to calcium and phosphate levels in saliva, Remineralization of enamel, Number and Type of Bacteria in Dental Plaque', 11(3), pp. 1636–1639.

Sa'adah, N. *et al.* (2017) 'Pengaruh pemberian pasta nano-hidroksiapatit terhadap mikroporositas enamel setelah perawatan bleaching', *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 4(1), pp. 33–38.

Setyawati, A. and Silviana, F. (2019) 'Pengaruh Pasta Cangkang Telur Ayam Negeri Terhadap Email Gigi', 3(2), pp. 24–29. Available at: file:///C:/Users/asus/Downloads/201-619-1-PB.pdf.

Setyawati, A. and Waladiyah, F. (2019) 'Porositas Email Gigi Sebelum Dan Sesudah Aplikasi Pasta Cangkang Telur Ayam Negeri. Laporan Penelitian', *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 31(3), pp. 221–227. doi: 10.24198/jkg.v31i3.25413.

Sujatno, A. *et al.* (2017) 'Studi Scanning Electron Microscopy (Sem) Untuk Karakterisasi Proses Oxidasi Paduan Zirkonium', *Jurnal Forum Nuklir*, 9(1), p. 44. doi: 10.17146/jfn.2015.9.1.3563.

Sunardi, S., Krismawati, E. D. and Mahayana, A. (2020) 'Sintesis dan Karakterisasi Nanokalsium Oksida dari Cangkang Telur', *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 16(2), p. 250. doi: 10.20961/alchemy.16.2.40527.250-259.

Tangboriboon, N. and Suttiprapar, J. (2016) 'Innovative Preparation Calcium Hydroxyapatite from Duck Eggshell via Pyrolysis', *Applied Mechanics and Materials*, 851(December), pp. 8–13. doi: 10.4028/www.scientific.net/amm.851.8.

Widyaningtyas, V., Rahayu, Y. C. and Barid, I. (2014) 'Analisis Peningkatan Remineralisasi Enamel Gigi setelah Direndam dalam Susu Kedelai Murni (Glycine max (L.) Merill) Menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM)', 2(2), pp. 258–262.

Yonata, D., Aminah, S. and Hersoelistyorini, W. (2017) 'Kadar kalsium dan karakteristik fisik tepung cangkang telur unggas dengan perendaman berbagai pelarut', *Jurnal Pangan Dan Gizi*, 7(2), pp. 82–93.

Zita, Z. *et al.* (2020) 'Gambaran Status Kesehatan Gigi dan Mulut pada Pasien Prolanis di Puskesmas Kedungmundu', *Medica Arteriana*, 2(1), pp. 43–52.

Zulsantritus, Edrizal, B. (2016) 'Potensi Remineralisasi Pada Pasta Gigi Berflorida dan Tidak Berflorida', *B-Dent*, 3(2), pp. 139–144.