

Pengaruh Pemberian Ekstrak Cangkang Telur Bebek (*Anas Platyrhynchos Domesticus*) Konsentrasi 20% Dalam Sediaan Gel Dan Pasta Terhadap Kekerasan Permukaan Email Gigi Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) : Studi (In Vivo)

*(Effect of Giving Duck Egg Shell Extract (*Anas Platyrhynchos Domesticus*) Concentration of 20% in Gel and Paste Preparations on the Hardness email Surface of Rat Teeth Wistar (*Rattus Norvegicus*) : Study (In Vivo))*

Cindy Arvanita¹, Prima Agumawanti², Moh. Husnun Niam³

¹ Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, Indonesia

² Bagian Kedokteran Gigi Anak Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, Indonesia

³ Bagian Ilmu Kesehatan Gigi dan Mulut Masyarakat Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, Indonesia

Abstrak

Karies gigi merupakan penyakit pada jaringan keras gigi yang ditandai dengan adanya kerusakan email dan dentin yang disebabkan oleh aktivitas bakteri pada suatu karbohidrat yang mengalami fermentasi, karies gigi juga ditandai dengan adanya demineralisasi pada jaringan keras gigi. Salah satu cara untuk mengatasi dan mencegah adanya karies yaitu dengan cara pemberian bahan antikariogenik yang dapat menghambat perkembangan karies dan memicu remineralisasi. Adapun bahan alternatif lain yang digunakan untuk remineralisasi salah satunya yaitu cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) karena memiliki kandungan kalsium karbonat yang terdapat pada cangkang telur dapat diubah menjadi hidroksiapatit atau senyawa kalsium, sehingga dapat digunakan sebagai pembentukan tulang dan gigi yang rusak. Pada penelitian ini ekstrak hidroksiapatit cangkang telur bebek dibuat dalam sediaan gel dan pasta. sediaan gel memiliki daya lekat yang tinggi sehingga daya serap pada permukaan email akan semakin maksimal, sedangkan dalam sediaan pasta memiliki daya absorpsi yang besar. Peneliti ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian gel dan pasta hidroksiapatit dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) serta *Casein Phosphopeptide- Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP) terhadap kekerasan email gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok perlakuan. Sebelum perlakuan sample gigi anterior bawah gigi tikus wistar di etsa terlebih dahulu dibagian labial selama 20 detik dan dibilas dengan menggunakan brush dan air. Setelah diaplikasikan etsa pada kelompok 1 diaplikasikan gel ekstrak hidroksiapatit cangkang telur bebek, pada kelompok 2 diaplikasikan pasta ekstrak hidroksiapatit cangkang telur bebek, dan pada kelompok 3 sebagai kelompok kontrol diaplikasikan CPP-ACP diaplikasikan selama 30 menit 2 kali sehari selama 14 hari. Pada hari ke 15 nya dilakukan dekapitasi gigi anterior bawah tikus wistar dan dilakukan pengujian kekerasan dengan menggunakan *mikrovikers hardness* dibagian labial gigi. Penelitian ini merupakan penelitian *True eksperimental* dengan *Post Test Control Group Design*. Hasil rata-rata kekerasan email yang telah diberi perlakuan yang kekerasannya paling tinggi yaitu CPP-ACP sebesar 332 VHN. Hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* menunjukkan gel ekstrak cangkang telur bebek dapat meningkatkan kekerasan permukaan email gigi. Hasil uji perbandingan menggunakan *Kruskal Wallis* menunjukkan terdapat perubahan kekerasan antara gel hidroksiapatit ekstrak cangkang telur bebek, pasta hidroksiapatit ekstrak cangkang telur bebek dan CPP-ACP serta terdapat perbedaan yang signifikan. Dari hasil penelitian ini, terjadi peningkatan kekerasan permukaan email gigi setelah di aplikasikan gel hidroksiapatit cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) dibandingkan dalam sediaan pasta dan sebagai kontrol positif dengan CPP- ACP juga meningkatkan kekerasan pada email gigi.

Kata kunci : CPP-ACP, gel hidroksiapatit cangkang telur bebek, kekerasan email pasta hidroksiapatit cangkang telur bebek.

Abstract

*Dental caries is a disease of the hard tissues of the teeth which is characterized by damage to the email and dentin caused by bacterial activity in fermented carbohydrates. One way to overcome and prevent caries is by giving anticariogenic substances that can inhibit caries development and trigger remineralization. As for other alternative materials used for remineralization, one of them is duck egg shell (*Anas platyrhynchos domesticus*) because it contains calcium carbonate which is in the eggshell can be converted into hydroxyapatite or calcium compounds, so that it can be used as the formation of damaged bones and teeth. In this study, duck egg shell hydroxyapatite extract was made in gel and paste preparations. In gel preparations, it has a high adhesive power so that the absorption on an email surface will be maximized. While in the preparation of pasta also has a great absorption power. This study aimed to determine the effect of hydroxyapatite gel and paste from duck eggshell extract (*Anas platyrhynchos domesticus*) and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on the tooth email hardness of wistar rats (*Rattus norvegicus*). In this study there were 3 treatment groups. Prior to treatment, the tooth sample was etched in the labial section for 20 seconds and rinsed using a brush and water. After etching was applied, in group 1, duck egg shell hydroxyapatite extract gel was applied, in group 2, duck egg shell hydroxyapatite extract paste was applied, and in group 3 as a control group, CPP-ACP was applied to the lower anterior teeth of wistar rats for 30 minutes 2 times a day, for 14 days. On the 15th day, the lower anterior teeth were decapitated by wistar rats and hardness testing was carried out using *mikrovikers hardness* in the labial part of the teeth. This research is a true experimental with *Post Test Control Group Design*. The result of the average hardness of email that has been treated with the highest hardness is CPP-ACP of 332 VHN. The results of the normality test using *Shapiro Wilk* showed that the duck egg shell extract gel could increase the surface hardness of tooth email. The results of the comparison test using *Kruskal Wallis* showed that there was a change in hardness between the hydroxyapatite gel of duck eggshell extract, hydroxyapatite paste of duck eggshell extract and CPP-ACP and there were significant differences. From the results of this study, there was an increase in the surface hardness of tooth email after the application of duck egg shell hydroxyapatite gel (*Anas platyrhynchos domesticus*) compared to paste preparations and as a positive control with CPP-ACP also increased the hardness of tooth email.*

Keywords : CPP-ACP, duck eggshell hydroxyapatite gel, duck eggshell hydroxyapatite paste

Korespondensi (Correspondence) : Prima Agumawanti. Fakultas Kedokteran Gigi. Griya dempel baru .JI Cluster B2 No 12, Kecamatan pedurungan, Semarang. Email: primaagus@unissula.ac.id

Karies gigi merupakan penyakit pada jaringan keras gigi yang ditandai dengan adanya kerusakan email dan dentin yang disebabkan oleh aktivitas bakteri pada suatu karbohidrat yang mengalami fermentasi, karies gigi juga ditandai dengan adanya demineralisasi pada jaringan keras gigi¹. Demineralisasi merupakan proses larutnya mineral gigi seperti kalsium dan fosfat dari hidroksiapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ yang dapat menyebabkan kerusakan email. Salah satu faktor yang menyebabkan menurunnya kekerasan email adalah berkurangnya kalsium hidroksiapatit pada email akibat dari proses demineralisasi². Salah satu cara untuk mengatasi dan mencegah adanya karies yaitu dengan cara pemberian bahan antikariogenik yang dapat menghambat perkembangan karies dan memicu remineralisasi. Remineralisasi merupakan suatu proses perbaikan kristal hidroksiapatit dengan cara pemberian bahan yang mengandung banyak mineral anorganik pada permukaan gigi yang telah kehilangan mineral anorganik pada permukaan gigi sehingga mampu meningkatkan kekerasan dan kekuatan gigi^{3,4}. Proses remineralisasi ini memiliki pengaruh secara signifikan terhadap kekerasan dan kekuatan gigi⁵.

Salah satu bahan yang dapat mencegah terjadinya karies yaitu *fluoride*, yang digunakan dalam pembuatan pasta gigi yang dapat menghambat proses demineralisasi email sehingga dapat menghambat proses karies gigi⁶. Selain *fluoride*, ada bahan lain yang dapat mencegah terjadinya karies yaitu *Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP)* yang mengandung kasein seperti fosfoprotein kasein (CPP), kalsium serta fosfat yang tinggi yang digunakan sebagai bahan untuk remineralisasi. Adapun bahan alternatif lain yang digunakan untuk remineralisasi salah satunya yaitu cangkang telur⁷.

Cangkang telur merupakan sumber terbesar dari CaCO_3 (kalsium karbonat) dengan kandungannya 95% dan juga memiliki kandungan 1% magnesium karbonat, 1% kalsium fosfat, dan 4% bahan organik terutama protein^{8,9}. Kalsium diketahui dapat meningkatkan kekerasan email dengan membentuk hidroksiapatit kembali dalam proses remineralisasi. Semakin tebal cangkang telur semakin tinggi kandungan kalsiumnya⁸. Kalsium karbonat yang ada didalam cangkang telur dapat diubah menjadi hidroksiapatit atau senyawa kalsium, sehingga dapat digunakan sebagai pembentukan tulang dan gigi yang rusak. Cangkang telur bebek memiliki kadar kalsium sebesar (21,01%) yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan , cangkang telur ayam ras (20,50%), cangkang telur puyuh (18,84%), dan cangkang telur ayam buras (16,54%)⁹. Kalsium karbonat yang ada didalam cangkang telur bebek juga dapat dijadikan hidroksiapatit melalui metode sol gel, presipitasi kimia basah, metode hidrotermal dan iradiasi gelombang mikro¹⁰.

Kalsium karbonat yang ada didalam cangkang telur diubah menjadi hidroksiapatit dalam sediaan gel dan pasta. Gel memiliki daya lekat yang tinggi sehingga daya serap pada suatu permukaan email akan semakin maksimal. Selain itu, gel memiliki sifat umum yaitu gel mampu

melekat pada permukaan tempat yang telah diolesi dalam waktu yang cukup lama sebelum sediaan dicuci atau dibersihkan. Sedangkan pasta juga memiliki daya absorpsi pasta besar¹¹.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui tingkat efektivitas antara gel hidroksiapatit dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) dan pasta hidroksiapatit dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) terhadap kekerasan permukaan email gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

Berdasarkan latar belakang diatas peneliti tertarik untuk mengetahui pengaruh aplikasi pemberian ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) dalam sediaan gel dan pasta terhadap kekerasan permukaan email gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*).

METODE

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan rancangan penelitian *post test control group design*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Laboratorium OSCE Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung, di Laboratorium Bahan Teknik Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Sampel dalam penelitian ini adalah 18 gigi incisivus rahang bawah yang baik dan utuh (tidak atrisi, tidak abrasi dan tidak erosi). Mahkota gigi dipotong menggunakan *micro motor low speed* dengan *bur separating disk*. Pengambilan sampel penelitian dilakukan menggunakan metode simple random sampling. Penelitian dilakukan pada 3 kelompok penelitian yaitu kelompok 1 gigi tikus wistar diaplikasikan gel ekstrak hidroksiapatit cangkang telur bebek sebagai kelompok perlakuan. Pada kelompok 2 gigi tikus wistar diaplikasikan pasta ekstrak hidroksiapatit cangkang telur bebek sebagai kelompok perlakuan dan pada kelompok 3 gigi tikus wistar diaplikasikan *Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP)* sebagai kelompok kontrol positif.

Kriteria inklusi dari penelitian ini adalah tikus wistar jantan (*Rattus norvegicus*), mahkota gigi incisivus rahang bawah yang baik dan utuh (tidak atrisi, tidak abrasi dan tidak erosi), berat badan 150-250 gram, umur 2 bulan, tidak tampak kelainan anatomis dan dalam keadaan sehat. Sedangkan kriteria eksklusi adalah gigi yang fraktur, gigi yang terdapat kelainan struktur gigi, tikus wistar tampak sakit sebelum perlakuan (gerakan tidak aktif), dan tampak terdapat kelainan anatomi.

Proses Sintesis Hidroksiapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$)

Diawali dengan membersihkan cangkang telur bebek di bawah air yang mengalir dan dipisahkan dari selaput membran, selanjutnya dikeringkan dengan temperatur ruang. Setelah itu, dilakukan pembuatan serbuk hidroksiapatit dengan cara cangkang telur bebek dihaluskan menggunakan blender, kemudian dilakukan pengayakan dengan mesh 100 dan ditimbang sebanyak 500 gram,

kemudian dilakukan proses kalsinasi dengan temperatur 1000°C selama 5 jam. Kalsium oksida (CaO) hasil dari kalsinasi tersebut disuspensikan ke dalam 100 ml aquades dengan konsentrasi Ca sebesar 0,5 M. Kemudian, larutan (NH₄)₂HPO₄ 0,3M sebanyak 100 ml dimasukkan setetes demi setetes ke dalam suspensi CaO dengan temperature 40°C sambil larutan diaduk menggunakan magnetic stirrer dan dibiarkan selama 5 jam pada temperatur ruang. Selanjutnya presipitat yang terbentuk kemudian disaring menggunakan kertas whattman no. 42 dan dikeringkan dengan temperature 110°C selama 5 jam. Selanjutnya dilakukan sintering terhadap presipitat kering untuk memperoleh senyawa Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ pada suhu 800°C selama 1 jam. Dan didapatkan serbuk hidroksiapatit dari cangkang telur bebek⁵.

Pembuatan Gel Ekstrak Cangkang Telur Bebek

Diawali dengan cara mencampurkan basis gel 20 gram CMCNa ditambahkan 890 ml aquadest hangat, kemudian di dispersikan, kemudian ditambahkan 20 gram TEA (Triethanolamine), setelah itu ditambahkan 20 gram propilen dan ditambahkan 1 gram Nipagin kemudian di homogenkan dan jadilah basis gel. Serbuk hidroksiapatit (serbuk cangkang telur bebek) 20% dimasukkan ke dalam basis yang telah berbentuk gel dan diaduk sampai homogen⁵.

Pembuatan Pasta Hidroksiapatit Dari Ekstrak Cangkang Telur Bebek

Diawali dengan menimbang bahan pengikat (CMC Na) sebanyak 1 gram dan ditambahkan aquadest hangat dan dimasukkan ke mortar dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan kalsium karbonat sebanyak 7,4 gr sedikit demi sedikit kedalam bahan pengikat sambil diaduk sampai homogen dan juga ditambahkan gliserin 5,4 ml dan diaduk sampai homogen. Setelah itu, ditambahkan propilen glikol sebanyak 1 ml dan diaduk sampai homogen dan jadilah basis pasta. Selanjutnya ditambahkan serbuk hidroksiapatit (serbuk cangkang telur bebek) dengan konsentrasi 20%⁶.

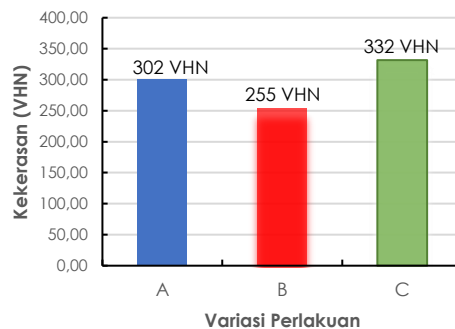
Cara Pengaplikasian

Sebelum diaplikasikan gel, pasta dan CPP-ACP, tikus di laku Pada hari pertama gigi dibersihkan dengan menggunakan microbrush dan air dan dikeringkan menggunakan kassa, setelah itu di aplikasikan etsa selama 20 detik kemudian dibilas dan dikeringkan dengan kassa. Selanjutnya pada kelompok A gigi diaplikasikan gel ekstrak cangkang telur bebek, kelompok B diaplikasikan pasta ekstrak cangkang telur bebek, dan pada kelompok C gigi diaplikasikan CPP-ACP. Pengaplikasian dipertahankan pada email selama 30 menit, 2 kali sehari selama 14 hari¹¹. Setelah perlakuan selesai pada hari ke 14, dilanjutkan dekaputasi pada hari ke 15 dengan cara memasukkan tikus kedalam box yang berisi klorofom, kemudian dilakukan pemotongan rahang tikus dan diekstraksi gigi tikus wistar menggunakan scalpel, pinset, dan gunting jaringan. Selanjutnya akar gigi dipotong

menggunakan *micromotor low speed* dengan *bur separating disk*. Setelah itu sampel di tanam ke dalam resin akrilik self cured dengan permukaan labial giginya menghadap keatas. Selanjutnya dilakukan pengujian kekerasan pada gigi tikus wistar pada hari ke 16. Dilakukan pengujian kekerasan di permukaan labial gigi tikus wistar^{11,12,13,14}.

Setelah mencatat hasil kekerasan gigi tikus wistar dilakukan analisis data. Dilakukan dengan pengujian SPSS yaitu *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas dari data yang akan diujikan. Uji *Levene Statistic* untuk mengetahui homogenitas dari data. Setelah didapatkan data yang berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan uji *One-Way Anova* dengan uji lanjut *Post Hoc Bonferroni*, apabila data nya tidak homogen dilanjutkan *Post Hoc Games Howell* untuk mengetahui pengaruh pemberian gel hidroksiapatit dari ekstrak cangkang telur bebek dengan pemberian pasta hidroksiapatit dari ekstrak cangkang telur bebek. Sedangkan apabila tidak terdistribusi normal dan data nya tidak homogen menggunakan *uji Kruskal wallis* dengan *post hoc Mann-Whitney*

HASIL



Gambar 1 A. Kelompok gel **B.** Kelompok pasta **C.** Kelompok CPP-ACP

Setelah dilakukan Hasil uji perbandingan perubahan menggunakan *Kruskal wallis* didapatkan nilai sig 0,11 yang menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok gel hidroksiapatit ekstrak cangkang telur bebek, pasta hidroksiapatit ekstrak cangkang telur bebek dan CPP-ACP.

Tabel 1. Hasil uji mann-whitney kelompok gel, kelompok pasta, dan kelompok CPP-ACP

	Sig		
	Gel	Pasta	CPP-ACP
Gel		0,010*	
Pasta			0,016*
CPP-ACP	0,199		

Keterangan: * p<0,05

Pada tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan hasil kekerasan yang signifikan antara kelompok gel dan pasta. Sedangkan antara kelompok pasta dan CPP-ACP didapatkan perbedaan hasil kekerasan yang signifikan. Dan antara kelompok CPP-ACP dan gel tidak ada perbedaan hasil kekerasan yang signifikan.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian pada kelompok gel didapatkan rata-rata hasil kekerasan sebesar 302 VHN, sedangkan pada kelompok pasta didapatkan rata-rata hasil sebesar 255 VHN, dan pada kelompok kontrol yaitu menggunakan *Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate* (CPP- ACP) didapatkan rata-rata hasil kekerasan 332 VHN. Dari hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kelompok gel lebih meningkat kekerasan dibanding pasta, namun kekerasan kedua kelompok tersebut lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol yaitu CPP-ACP. Pada penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa yang terdapat pengaruh pemberian gel dan pasta hidroksiapatit ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) 20% dan *Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate* (CPP- ACP) terhadap peningkatan kekerasan permukaan email. Adanya peningkatan kekerasan permukaan email ini disebabkan karena gel dan pasta hidroksiapatit cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) mengandung kalsium dan fosfor. Kalsium diketahui dapat meningkatkan kekerasan email dengan membentuk hidroksiapatit kembali dalam proses remineralisasi¹⁴. Terjadinya remineralisasi juga dipengaruhi adanya kandungan kalsium dan fosfor yang ada didalam cangkang telur bebek. Kalsium dan fosfor merupakan mineral yang penting dalam proses remineralisasi email gigi⁶.

Hasil penelitian pada kelompok gel menunjukkan bahwa kekerasan permukaan email lebih tinggi setelah di aplikasikan gel dibandingkan dengan pasta hidroksiapatit cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*)20%. Hal tersebut karena gel memiliki daya lekat yang tinggi sehingga daya serap pada suatu permukaan email akan semakin maksimal. Selain itu, gel memiliki sifat umum yaitu gel mampu melekat pada permukaan tempat yang telah di aplikasikan dalam waktu yang cukup lama sebelum sediaan dicuci atau dibersihkan. Selain itu gel yang baik akan memiliki daya lekat yang tinggi, sehingga semakin tinggi daya lekat maka semakin baik juga untuk sediaan gel¹⁵. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Galuh¹⁶ menunjukkan bahwa aplikasi gel ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) konsentrasi 20% terbukti memiliki rata-rata kenaikan kekerasan permukaan email sebesar 73,97 VHN, selain itu pada pengaplikasian CPP-ACP sebagai kontrol positif memiliki rata-rata kenaikan kekerasan sebesar 29,78 VHN. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Anggun¹⁷ mengenai pengaruh pemberian gel ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) 31% terhadap kekerasan permukaan email gigi secara

in vitro menunjukkan bahwa terbukti mengalami peningkatan dengan rata-rata 47,37 terhadap kekerasan permukaan email gigi. Sedangkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sharma *et al.*¹⁸ menunjukkan bahwa aplikasi pasta yang mengandung hidroksiapatit terbukti dapat meningkatkan kalsium dan fosfor juga meningkatkan kekerasan email gigi. Pengukuran kekerasan permukaan email gigi dilakukan dengan menggunakan alat *micro vickers hardness tester*. Rata-rata kekerasan untuk email berkisar antara 250-360 VHN vickers¹⁹ (hasil kel A,B, C masih di bawah 360 VHN vickers, artinya tjd peningkatan kekerasan bila di banding 250 VHN, tetapi tjd penurunan kekerasan bila dibanding 360 VHN).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terdapat pengaruh kekerasan setelah diaplikasikan gel hidroksiapatit dari ekstrak cangkang telur bebek (*Anas platyrhynchos domesticus*) lebih tinggi dibandingkan pasta dan sebagai kontrol positif nya menggunakan *Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP) juga memiliki tingkat kekerasan yang lebih tinggi dibandingkan sediaan gel dan pasta.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ramayanti S, Purnakarya I. Peran Makanan terhadap Kejadian Karies Gigi. J Kesehatan Masyarakat. 2013;7(2):89-93. Available from: <http://jurnal.fkm.unand.ac.id/index.php/jkma/article/view/114/120>
2. Kidd EA. *Essentials of Dental Caries* [Internet]. 3rd Editio. 2005. Available from: <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
3. Widyaningtyas V, Rahayu YC, Barid I. Analisis Peningkatan Remineralisasi email Gigi setelah Direndam dalam Susu Kedelai Murni (*Glycine max* (L .) Merrill) Menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM). 2014;2(2):258-62.
4. Keumala CR. Pengaruh Pengguna Pasta Gigi yang Mengandung Baking Soda dan Pasta Gigi yang Mengandung Fluor terhadap Ph Saliva Pada Murid Kelas V SDN 24 Banda Aceh. 2017;1(3):55-64.
5. Asmawati, Bahruddin Thalib, Rafikah Hasyim AMT. An Analysis Of email Remineralization In Eggshell Using Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (EDS). 2016;1-27.
6. Mahreni, Sulistyowati E, Sampe S, Chandra W. Pembuatan Hidroksiapatit dari Kulit Telur. 2012;1(1):1-5.
7. Hendrik YC, Puspitawati R, Gunawan HA. *Effects of applying anchovy (Stolephorus insularis) substrates on the microhardness*

- of tooth email in Sprague-Dawley rats. J Phys Conf Ser. 2017;884(1).
8. Asmawati A. *Identification of inorganic compounds in eggshell as a dental remineralization material.* J Dentomaxillofacial Sci. 2017;2(3):168.
 9. Aminah S, Meikawati W. *Calcium Content and Flour Yield of Poultry Eggshell With Acetic Acid Extration.* 2016;49-53.
 10. Setyawati A, Silviana F. *Pengaruh Pasta Cangkang Telur Ayam Negeri Terhadap Email Gigi.* J Ked gigi. 2019;13(2):24-30.
 11. Husnani, Firdaus M, Muazham A. *Optimasi Parameter Fisik Viskositas, Daya Sebar dan Daya Lekat pada Basis Natrium Cmc dan Carbopol 940 pada Gel Madu dengan Metode Simplex Lattice Design.* J ilmu Farm dan Farm Klin. 2017;14(1):11-8.
 12. Komariah A, Alamsyah N. *Pengaruh Pemberian Nano Kalsium dari Eksoskeleton Kepiting Bakau (Scylla sp) Selama Masa Kebuntingan dan Laktasi terhadap Kekerasan Gigi Tikus (F1).* 2011;
 13. Aydin B, Pamir T, Baltaci A, Orman MN, Turk T. *Effect of Storage Solutions on Microhardness of Crown email and Dentin.* Eur J Dent. 2015;9(2):262-6.
 14. Yendriwati, Sinaga RM, Dennis D. *Increase of email hardness score after cow milk immersion of demineralized tooth: An in vitro study.* World J Dent. 2018;9(6):439-43.
 15. Rachmawati D, Chandrasari Kurniawati, Lukman Hakim NR. *Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate.* 2019;3(2):257-62.
 16. Galuh Eka Sasanti. *Pengaruh Aplikasi Gel Ekstrak Cangkang Telur Bebek (Anas Platyrhynchos Domesticus) Konsentrasi 20% dan 40% terhadap Kekerasan email Gigi Sulung (In Vitro).* 2021;
 17. Anggun Amanda Saveria. *Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Cangkang Telur Bebek (Anas Platyrhynchos Domesticus) terhadap Kekerasan Permukaan email Gigi.* Penelitian Eksperimental Laboratoris (In vitro). 2019;
 18. Sharma A, Rao A, Shenoy R, Suprabha BS. *Comparative Evaluation Of Nano-Hydroxyapatite and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate on The Remineralization Potential Of Early email Lesions: An In Vitro Study.* J Orofac Sci. 2017;9(1):28-33.
 19. Kumayasari MF and AIS. *Studi Uji Kekerasan Rockwell Superficial VS Micro Vickers.* 2017;2(2).