

**PEMANFAATAN NANO KALSIMUM CANGKANG KEPITING BAKAU
(SCYLLA SERRATA) TERHADAP KEKERASAN ENAMEL GIGI
(PENELITIAN *IN VITRO*)**



RAFIQAH KHUSNUL KHAFIDHA M.

J011211084

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024



**PEMANFAATAN NANO KALSIUM CANGKANG KEPITING BAKAU
(SCYLLA SERRATA) TERHADAP KEKERASAN ENAMEL GIGI
(PENELITIAN *IN VITRO*)**

SKRIPSI

RAFIQAH KHUSNUL KHAFIDHA M.

J01121108



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**PEMANFAATAN NANO KALSIUM CANGKANG KEPITING BAKAU
(SCYLLA SERRATA) TERHADAP KEKERASAN ENAMEL GIGI
(PENELITIAN *IN VITRO*)**

RAFIQAH KHUSNUL KHAFIDHA M.

J011211084

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran
Gigi

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI

DEPARTEMEN KONSERVASI GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

SKRIPSI

PEMANFAATAN NANO KALSIMUM CANGKANG KEPITING BAKAU
(*SCYLLA SERRATA*) TERHADAP KEKERASAN ENAMEL GIGI
(PENELITIAN *IN VITRO*)

RAFIQAH KHUSNUL KHAFIDHA M.
J011211084

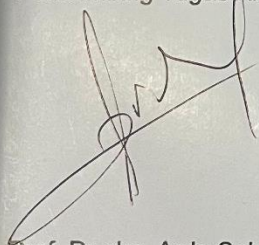
Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada
29 November 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
DEPARTEMEN KONSERVASI GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

Mengesahkan:

Pembimbing Tugas Akhir,



Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes

NIP 197007121998021002

Mengetahui:

Ketua Program Studi,



Muhammad Iqbal, drg., Ph.D
Sp.Prof., Subsp. PKIKG (K).
NIP198010212009121002

iv

**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "**Pemanfaatan Nano Kalsium Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) terhadap Kekerasan Enamel Gigi (Penelitian *In Vitro*)**" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 29 November 2024



KHUSNUL KHAFIDHA M.

J011211084

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah rabbi'l 'aalamiin, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke Allah SWT atas Rahmat dan Karunia-nya sehingga skripsi dengan judul "Pemanfaatan Nano Kalsium Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla Serrata*) terhadap kekerasan emanel gigi (Penelitian *in vitro*) ini dapat diselesaikan sebagai syarat memperoleh gelar sarjana kedokteran gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, memberikan saran serta arahan, motivasi dan bimbingan selama penulis melakukan penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed., Ph.D. selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta dosen dan seluruh civitas akademik atas bantuan selama penulis menempuh pendidikan, serta kepada para dosen penguji drg. Nurhayaty Natsir, P.hD., Sp.KG., Subsp. KR(K). dan Prof. Dr. drg. Maria Tanumihardja, MD. Sc. atas bimbingan dan masukan yang bermanfaat dan juga terima kasih kepada drg. Asdar Gani, M.Kes., selaku dosen pembimbing akademik, atas motivasi dan nasihat yang diberikan selama ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Kedua orang tua tercinta, Bapak Misbahuddin dan Ibu Nurhasanah serta kakak tercinta Muh. Rifqi Faiq atas segala kasih sayang, dukungan, dan doa yang senantiasa diberikan kepada penulis. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada Nenek Oppeng, Papa Otto dan Mama otto, serta seluruh keluarga besar H. Hafid yang yang tak henti-hentinya membantu, mendoakan dan memberi dukungan kepada penulis. Teman-teman Inkremental 2021 dan sahabat perkuliahan saya Audrey Valencia, Dwi Putri Askari, Nabila Salmin, Tyas Nadya, dan Ananda Ezra Regita yang selalu memberi kepercayaan, semangat, dukungan, dan berbagi suka-duka selama menempuh pendidikan ini. Dan Sahabat-sahabat penulis yaitu Spoko, Halu, Ber4, Srb dan Warga Rempong yang selalu memberikan dukungan, dan semangat pada penulis hingga berada dititik ini. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu dengan semua dukungan yang telah diberikan, hingga terselesaikannya tugas akhir ini.

Penulis,

Rafiqah Khusnul Khafidha M.

ABSTRAK

RAFIQAH KHUSNUL KHAFIDHA M. **Pemanfaatan nano kalsium cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) terhadap kekerasan enamel gigi** (dibimbing oleh Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes)

Latar Belakang : Karies terjadi karena proses demineralisasi. Untuk mengembalikan mineral enamel yang larut akibat demineralisasi diperlukan proses remineralisasi. Remineralisasi adalah proses mengembalikan mineral ke struktur hidroksiapatit, dibutuhkan bahan yang mengandung kalsium dan fosfat. Kalsium pada gigi memiliki potensi untuk meningkatkan tingkat kekerasan gigi. Mineral dalam bentuk nanopartikel ini akan membuatnya lebih mudah berpenetrasi ke dalam enamel gigi. Nanokalsium dapat mencegah karies dengan cara menghambat pembentukan biofilm dan mendukung proses remineralisasi gigi. Cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) mengandung kalsium dalam jumlah yang signifikan. **Tujuan** : Menilai pemanfaatan nano kalsium dalam cangkang kepiting (*Scylla serrata*) terhadap kekerasan mikro enamel gigi secara *in vitro*. **Metode** : Penelitian ini merupakan penelitian pre-post test dengan kelompok kontrol, yang terdiri dari 3 kelompok yaitu kelompok sampel yang direndam dalam *saliva artificial* (kontrol negatif), sampel yang diaplikasikan nanogel kalsium cangkang kepiting, atau pasta CPP-ACP (kontrol positif). Alat uji kekerasan Vickers digunakan untuk mengukur kekerasan mikro enamel gigi sebelum dan sesudah aplikasi, kandungan kalsium dalam cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) ditentukan dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Data dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas Saphiro-Wilk, uji homogenitas *Levene's*, uji ANOVA, dan uji Tukey dengan tingkat kepercayaan 95% ($P < 0,05$). **Hasil** : Data terdistribusi secara normal dan homogen ($P > 0,05$). Nilai rata-rata *Hardness Vickers Number* (HVN) sebelum dan sesudah perlakuan mengalami penurunan pada kelompok 1 dan 2, sedangkan mengalami peningkatan pada kelompok 3. Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) pada nilai kekerasan mikro enamel gigi antar kelompok. Hasil uji Tukey menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antara kelompok 1 vs 3 dan kelompok 2 vs 3. **Kesimpulan** : Gel nano kalsium cangkang kepiting pada penelitian ini tidak menunjukkan peningkatan kekerasan pada enamel gigi *in vitro*.

Kata Kunci : Kekerasan enamel, Cangkang kepiting bakau, *Scylla serrata*, Nano kalsium, *In vitro*.

ABSTRACT

RAFIQAH KHUSNUL KHAFIDHA M. **Utilization of nano calcium from mangrove crab shells (*Scylla serrata*) on enamel hardness** (Supervised by Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes)

Background : Caries is occurs due to demineralization process. To restore enamel minerals that dissolve caused by demineralization it's needs remineralization process. Remineralization is a process returning minerals to the hydroxyapatite structure, the materials containing calcium and phosphate are needed. Calcium in teeth has potential to increase the level of hardness of teeth. This mineral in the form of nanoparticles will make it more easier to penetrate into the enamel teeth. Nanocalcium can prevent caries by inhibiting the formation of biofilm and support the process of tooth remineralization. Mangrove crab (*Scylla serrata*) shells contain significant amounts of calcium. **Purpose** : Assessing the utilization of nano calcium in crab shell (*Scylla serrata*) on tooth enamel microhardness *in vitro*. **Methods** : This study is a pre-post test with a control group, which consists of 3 groups: the sample group soaked in artificial saliva (negative control), the sample applied crabshell calcium nanogel, or CPP-ACP paste (positive control). A Vickers hardness tester was used to measure the microhardness of tooth enamel before and after application, Calcium content in mud crab shells (*Scylla serrata*) determined by using a Atomic Absorption Spectrophotometers (SSA). Data were analyzed statistically a Saphiro-Wilk normality test, Levene's homogeneity test, ANOVA test, and Tukey test with a 95% confidence level ($P < 0.05$). **Results** : Data were distributed and homogeneous and normally ($P > 0.05$). The average value of Hardness Vickers Number (HVN) before and after treatment were decreased in groups 1 and 2, while it increased in group 3. The results of ANOVA test showed a significant difference ($P < 0.05$) in the microhardness value of tooth enamel between groups. Tukey test results showed significant differences ($P < 0.05$) between groups 1 vs 3 and group 2 vs 3. **Conclusion** : In conclusion, the crabshell (*Scylla serrata*) calcium nanogel in this study did not show microhardness increased on tooth enamel *in vitro*.

Kata Kunci : Enamel hardness, Mangrove crab shell, *Scylla serrata*, Nano calcium, *In vitro*.

DAFTAR ISI

PERNYATAAN PENGAJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Peneletian	3
1.4.1 Manfaat Teoritis	3
1.4.2 Manfaat Aplikatif	3
BAB II METODE PENELITIAN	4
2.1 Jenis dan Desain Penelitian	4
2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian	4
2.2.1 Waktu Penelitian	4
2.2.2 Lokasi Penelitian	4
2.3 Sampling	4
2.3.1 Teknik Sampling	4
2.3.2 Besar Sampling	4
2.4 Variabel Penelitian	5

2.4.1 Variabel Terikat.....	5
2.4.2 Variabel Bebas.....	5
2.4.3 Variabel Antara	5
2.4.4 Variabel Kendali.....	5
2.5 Definisi Operasional Variabel.....	5
2.5.1 Saliva artificial	5
2.5.2 Gel nano kalsium dari cangkang keping	5
2.5.3 CPP-ACP	5
2.5.4 Remineralisasi	5
2.6 Kriteria Peneletian.....	5
2.6.1 Kriteria Inklusi	5
2.6.2 Kriteria Eksklusi	6
2.7 Alat dan Bahan	6
2.8 Prosedur Penelitian.....	6
2.8.1 Ijin Etik	6
2.8.2 Persiapan alat/bahan dan sampel.....	6
2.8.3 Prosedur pembuatan saliva artificial	6
2.8.4 Pembuatan nano kalsium cangkang keping bakau	6
2.8.5 Pengamatan kadar kalsium pada nano kalsium cangkang keping	7
2.8.6 Pembuatan gel nano kalsium cangkang keping	7
2.8.7 Pengujian kekerasan enamel gigi awal dan akhir	7
2.8.8 Pengaplikasian gel nano kalsium dan pasta CPP-ACP	7
2.8.9 Analisis Data	8
2.9 Alur Penelitian.....	9
BAB III HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	12
3.1 Hasil Penelitian	12
3.1.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas	12
3.1.2 Kadar Kalsium Cangkang Keping	12
3.1.3 Kekerasan Mikro Enamel Gigi.....	12
3.1.4 Uji ANOVA	11
3.1.5 Uji Tukey.....	12
3.2 Pembahasan.....	12

BAB IV PENUTUP	15
4.1 Kesimpulan	15
4.2 Saran	15
DAFTAR ISI	16
LAMPIRAN	18

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Alur Penelian..... 9

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1. Kadar Kalsium Cangkang Kepiting.....	12
Tabel 3. 2. Nilai rata-rata dan standar deviasi kekerasan mikro enamel sebelum dan setelah perlakuan dari tiap kelompok	11
Tabel 3. 3. Hasil uji ANOVA antar kelompok.....	11
Tabel 3. 4. Hasil Uji Tukey pada kelompok setelah perlakuan.....	12

DAFTAR LAMPIRAN

Persetujuan Etik	18
Izin Penelitian	19
Daftar Hadr	22
Pernyataan Tidak Afiliasi dengan Organisasi Komersial	24
Alat dan Bahan	25
Prosedur Penelitian	27
Data Mentah <i>Uji Vickers Hardness Tester</i>	30
Analisis Data	31

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut *Global Burden of Disease Study* pada tahun 2016, penyakit mulut mempengaruhi 3,58 M manusia di seluruh dunia, dengan karies pada gigi permanen menjadi paling umum. Secara global, diperkirakan 2,4 M manusia menderita karies pada gigi permanen (Fahrion, 2022). Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar pada tahun 2018, karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut dengan proporsi terbanyak di Indonesia yaitu sebanyak 45,3% (Andriyani *et al*, 2023). Prevalensi karies di Sulawesi Selatan 37,6% dan yang memiliki pengalaman karies gigi sebesar 58,1% (Rahayu, 2022). Karies gigi merupakan suatu penyakit yang multifaktor yang diawali dengan asam yang akan merusak mineral-mineral gigi sehingga dapat menimbulkan kavitas pada gigi (Sutanti *et al*, 2022). Karies gigi terjadi karena ada proses demineralisasi yaitu unsur mineral hilang pada gigi, yang dapat dipengaruhi oleh plak dan karbohidrat. (Rahayu, 2022).

Mengembalikan mineral enamel yang larut akibat demineralisasi dapat dilakukan dengan remineralisasi. Remineralisasi merupakan proses pengembalian ion-ion mineral ke dalam struktur kristal hidroksiapatit yang terdapat di enamel gigi. Untuk terjadi proses remineralisasi, dibutuhkan bahan yang mengandung kalsium dan fosfat, serta menjaga pH dalam mulut tetap netral (Salsabila S dkk, 2022).

Casein *Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP) merupakan salah satu alternatif untuk remineralisasi karena berpengaruh dalam peningkatan pH saliva, sehingga pH saliva dapat tetap normal. CPP-ACP berperan dalam mendukung proses buffer saliva dengan cara menempatkan ion kalsium dan fosfat pada permukaan gigi. CPP-ACP juga memiliki efek prebiotik dengan memberikan nutrisi pada enam spesies utama bakteri penyebab karies, sehingga secara signifikan mengurangi risiko terbentuknya lesi karies. Selain itu, kombinasi CPP-ACP dengan fluor dapat memperlambat proses demineralisasi enamel dan menciptakan lingkungan rongga mulut yang mendukung keseimbangan mikrobiota. (Lesmana *et al*, 2022)

Kalsium merupakan mineral yang memiliki peran penting dan diperlukan dalam jumlah yang lebih banyak daripada mineral lain dalam tubuh, oleh karena 99% dari total kalsium terdapat dalam jaringan keras seperti tulang dan gigi, dan hanya sekitar 1% terdapat dalam darah dan jaringan lunak (Setyawati dan Waladiyah, 2019). Kehadiran kalsium pada gigi memiliki potensi untuk meningkatkan tingkat kekerasan pada gigi. Namun demikian, penyerapan kalsium oleh tubuh lebih sulit karena ukuran partikel kalsium yang relatif besar (Octarina *et al*, 2018). Ukuran mineral kalsium sangat memengaruhi tingkat penyerapan ke dalam tubuh (gigi) (Komaria dan Alamsyah, 2015). Kalsium dalam bentuk mikro kalsium memiliki penyerapan hanya sebesar 50% pada tubuh.

Ukuran partikel kalsium sangat memengaruhi tingkat penyerapan ke dalam tubuh. Kalsium dalam bentuk nanopartikel dapat langsung terserap oleh tubuh dengan sempurna, dibandingkan dengan kalsium yang biasa dikonsumsi oleh Masyarakat (Suptijah *et al*, 2012).

Modifikasi bentuk fisik nano diharapkan menjadikan ukuran partikel sangat kecil yaitu 10nm-1000nm sehingga dapat diserap lebih optimal dan efisien oleh tubuh. Nanopartikel mudah berpenetrasi pada permukaan enamel yang terdapat defek akibat proses demineralisasi karena mempunyai bentuk yang sangat kecil. Pertimbangan utama penggunaan nano partikel ialah karakteristik fisik dan kimawi, yaitu muatan permukaan dan derajat hidrofobitasnya, luas permukaan dan kemampuan partikel untuk diserap permukaan biofilm (Suptijah *et al*, 2012). Efektivitas dari nano partikel dapat mencegah karies dengan cara menghambat terbentuknya biofilm dan membantu proses remineralisasi gigi. Nano kalsium memiliki bioavailabilitas yang tinggi dibandingkan dengan mikro kalsium sehingga nano kalsium lebih efektif memasuki sel (Gao *et al*, 2007). Selain daya penyerapan pada tubuh, nano partikel juga mempunyai daya larut yang sangat tinggi (Husyaerry dan Setiawan, 2018). Kalsium yang dibuat dalam bentuk nano partikel memiliki tingkat pemecahan molekul menjadi partikel lebih kecil yang tinggi sehingga terjadi pertukaran materi pada dentin dan pulpa (Octarina dan Meilita, 2019).

Cangkang adalah contoh sumber kalsium alami yang diperoleh dari limbah. Cangkang dari tiram, kepiting, dan remis adalah limbah organisme akuatik dengan kandungan kalsium yang tinggi, tetapi hingga saat ini belum banyak dimanfaatkan (Husyaerry dan Setiawan, 2018). Kalsium dapat diperoleh dari hasil ekstraksi limbah cangkang krustase yang mengandung kalsium 30%-50%, protein 30%-40%, dan kitin 20%-30%. Keberadaan kalsium pada limbah cangkang krustase dapat menjadi salah satu alternatif pemanfaatan di bidang farmasi dan kesehatan yaitu sebagai bahan remineralisasi gigi dan tulang (Octarina dan Meilita, 2019).

Limbah cangkang kepiting bakau mengandung kalsium karbonat 53,70%-78,40%, kitin 18,70%-32,20%, dan protein 15,06%-23,20%. Kalsium karbonat yang terkandung dalam cangkang kepiting bakau dapat diubah menjadi kalsium oksida dengan proses kalsinasi, sehingga dapat dimanfaatkan menjadi sumber kalsium alami (Fajri *et al*, 2019).

Penulis ingin melakukan penelitian untuk melihat pengaruh nano kalsium cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) sebagai bahan alternatif remineralisasi enamel gigi secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka timbul permasalahan yaitu, apakah nano kalsium dari cangkang kepiting (*Scylla serrata*) mempunyai pengaruh terhadap kekerasan enamel gigi secara *in vitro*?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menilai pemanfaatan nano kalsium pada cangkang kepiting (*Scylla serrata*) terhadap kekerasan enamel gigi secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui pengaruh perendaman gigi dalam *saliva* artificial terhadap kekerasan mikro enamel gigi.
- b. Untuk mengetahui pengaruh aplikasi gel nano kalsium cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) terhadap kekerasan mikro enamel gigi.
- c. Untuk mengetahui pengaruh aplikasi pasta CPP-ACP terhadap kekerasan mikro enamel gigi.

1.4 Manfaat Peneletian

1.4.1 Manfaat Teoritis

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah teori mengenai pemanfaatan nano kalsium pada cangkang kepiting bakau di bidang Kedokteran Gigi.
- b. Menambah teori mengenai peran nano partikel cangkang kepiting bakau sebagai agen remineralisasi enamel gigi.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

- a. Sebagai dasar pengaplikasian nano kalsium cangkang kepiting remineralisasi gigi pada gigi yang mengalami demineralisasi gigi.
- b. Sebagai solusi mengurangi limbah cangkang kepiting di lingkungan alam.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laborrium dan disain penelitian ini adalah *pre test and post test with control group*.

2.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

2.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2024-Oktober 2024.

2.2.2 Lokasi Penelitian

- a. Laboratorium Pengujian Kimia, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene untuk ekstrak nano kalsium cangkang kepiting dan gel nano kalsium cangkang kepiting.
- b. Laboratorium Konservasi Gigi, Fakultas kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin bertujuan untuk membersihkan serta memotong sampel gigi.
- c. Laboratorium Mekanik Politeknik Negeri Ujung Pandang bertujuan untuk dilakukan uji Vickers.
- d. Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar bertujuan untuk dilakukan uji Spektrofotometri Serapan Atom (SSA).

2.3 Sampling

2.3.1 Teknik Sampling

Pengambilan sampel menggunakan teknik *purposive sampling*.

2.3.2 Besar Sampling

Perhitungan besar sampel dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer.³⁴

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

keterangan :

n = besar sampel

t = kelompok perlakuan

Cara perhitungan besar sampel :

t = 3 kelompok penelitian

$$(n-1)(3-1) \geq 15$$

$$(n-1)(2) \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 15 + 2$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq \frac{17}{2}$$

$$n \geq 8,5$$

$$n \geq 8,5 + 0,85 = 9,35 \approx 9 \text{ sampel/Kelompok.}$$

2.4 Variabel Penelitian

2.4.1 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kekerasan mikro enamel gigi.

2.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *saliva artificial*, gel nano kalsium dari cangkang kepiting bakau, dan pasta CCP-ACP.

2.4.3 Variabel Antara

Variabel antara dalam penelitian ini adalah proses remineralisasi enamel gigi.

2.4.4 Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah volume bahan ($\pm 0,25$ g), lama aplikasi (3 menit), dan frekuensi aplikasi (2 kali sehari).

2.5 Definisi Operasional Variabel

2.5.1 *Saliva artificial*

Saliva artificial adalah larutan terapeutik yang dirancang untuk meniru komposisi dan fungsi saliva alami. Dapat digunakan untuk meningkatkan kelembapan rongga mulut, mengurangi risiko infeksi mikroba dan mendukung remineralisasi enamel.

2.5.2 Gel nano kalsium dari cangkang kepiting

Sediaan yang terbuat dari ekstrak cangkang kepiting yang dikalsiasi, dan melalui proses rendaman untuk menghasilkan nano partikel berukuran 1nm-100nm, serta dibuat dalam bentuk gel berwarna bening.

2.5.3 CPP-ACP

Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) merupakan bahan yang dibeli dan diaplikasikan pada gigi untuk melindungi gigi dari kerusakan, berwujud pasta dan berwarna putih.

2.5.4 Remineralisasi

Remineralisasi merupakan proses pengembalian ion-ion mineral yang larut ke dalam struktur kristal hidroksiapatit yang terdapat di enamel gigi. Remineralisasi dapat diukur melalui parameter kekerasan enamel yaitu *Vickers Hardness Numbers*.

2.6 Kriteria Penelitian

2.6.1 Kriteria Inklusi

- Gigi insisivus sentralis rahang atas.
- Gigi yang ujung akar sudah menutup sempurna.

2.6.2 Kriteria Eksklusi

- Gigi yang terdapat restorasi atau tumpatan.
- Gigi dengan karies.
- Gigi dengan fraktur.
- Gigi diskolorasi.
- Gigi yang retak.

2.7 Alat dan Bahan

- a. Alat : Vickers Hardness Tester (Affri[®] Hardness Tester, USA) Spektrofotometri Serapan Atom (Shimadzu[®] AA-7000, Jepang), pot obat, handpiece (Pana-Air[®], Jepang), carborundum disc, kertas saring, labu takar 25 mL (Pyrex[®]), microbrush (Goalwhite[®]).
- b. Bahan : Gigi insisivus sentralis rahang atas manusia, gel nano kalsium cangkang keping, pasta CPP-ACP (GC Tooth Mousse[®], USA) larutan Hank's *Balanced Salt Solution*, pumice, HCL 2N, NaOH 3N, aquades, HNO 3N, HCl, aquademin, trietanolamin, *propylene glycol*, nipagin, dan CMC-Na.

2.8 Prosedur Penelitian

2.8.1 Ijin Etik

Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin. Nomor: 0517/PL.09/KEPK FKG-RSGM UNHAS/2024, Tanggal: 9 Juli 2024.

2.8.2 Persiapan alat/bahan dan sampel

Bahan/alat serta sampel yang akan digunakan disiapkan sebelum penelitian. Gigi insisivus pertama rahang atas yang sudah dikumpulkan sebanyak 27 buah di simpan pada pot plastik dan direndam dalam larutan Hank's *Balanced Salt Solution* sampai akan digunakan. Sampel di bersihkan menggunakan pumice dan dicuci dibawah air mengalir. Sampel yang sudah dibersihkan, dipotong pada bagian *cemento-enamel junction* (CEJ) menggunakan *carborundum disc*. Selanjutnya sampel dibagi menjadi 3 kelompok secara acak dan sama banyak. Kelompok pertama, yaitu kelompok kontrol negatif sampel direndam dalam *Saliva artificial* selama 7 hari. Kelompok kedua, yaitu diaplikasikan bahan gel nano kalsium cangkang keping sebanyak 2x aplikasi perhari selama 7 hari, dan kelompok tiga sampel diaplikasikan pasta CPP-ACP sebanyak 2x aplikasi perhari selama 7 hari (Pagi dan Malam).

2.8.3 Prosedur pembuatan saliva artificial

Pembuatan *saliva artificial* dengan cara memasukkan NaCL 6,70 g, NaHCO₃ 1,50 g, KCl 1,20 g, Na₂HPO₄ 0,20 g, KSCN 0,33 g ke dalam gelas ukur, lalu ditambahkan dengan aquades hingga mencapai 1000 mL.

2.8.4 Pembuatan nano kalsium cangkang keping bakau

Bahan cangkang keping dibersihkan dibawah air mengalir untuk menghilangkan sisa dari daging keping, setelah itu dikeringkan dengan panas

matahari selama 2 hari. Cangkang yang sudah kering dipotong-potong atau hancurkan sehingga menghasilkan cangkang kepiting dalam bentuk tepung. Cangkang Kepiting yang telah berbentuk tepung ditimbang sebanyak 12,5 g. Kemudian diekstraksi dengan HCl 2N 250 ml temperatur 100°C selama 60 menit. Hasil dari ekstraksi disaring menggunakan kertas saring sehingga akan diperoleh filtrat. Larutan hasil dari penyaringan diendapkan dengan menambahkan 250 mL NaOH 3N tetes demi tetes, diaduk dan dibiarkan hingga tidak ada endapan yang terbentuk lagi. Setelah itu, endapan dipisahkan melalui proses dekantasi dan penyaringan. Hasil endapan akan dinetralkan menggunakan aquades hingga mencapai pH 7. Kemudian endapan dikeringkan dalam tanur pada temperatur 650°C. Setelah itu dilakukan pengamatan kadar kalsium.

2.8.5 Pengamatan kadar kalsium pada nano kalsium cangkang kepiting

Bahan cangkang kepiting yang telah dibuat menjadi nano kalsium, dilarutkan ke dalam campuran HNO₃ dan HCl dengan perbandingan 5:2. Untuk memudahkan pelarutan, dilakukan pemanasan dengan menggunakan hotplate. Selanjutnya masukkan larutan sampel ke dalam labu takar 25 mL, kemudian tambahkan *aquademin* hingga tanda batas. Larutan siap dianalisis dengan metode uji Spektrofotometri Serapan Atom.

2.8.6 Pembuatan gel nano kalsium cangkang kepiting

Pembuatan gel nano kalsium cangkang kepiting dimulai dengan mencampurkan 2 g trietanolamin, 2 g propylene glycol, dan 0,2 g nipagin lalu masukkan kedalam beaker, aduk hingga homogen. Kemudian tambahkan 3 g CMC-Na. Setelah basis gel jadi, campurkan 320 g basis gel dan 80 g bubuk nano kalsium cangkang kepiting

2.8.7 Pengujian kekerasan enamel gigi awal dan akhir

Sampel diukur kekerasan mikro enamelnya menggunakan alat *Vickers hardness tester* sesuai dengan standart ASTM E348 sebelum dan setelah lama perlakuan (7 Hari). Sampel diletakkan diatas sebuah lempeng kaca kemudian diletakkan diatas meja objek alat Vickers. Tentukan focus objek, kemudian tentukan besar indentasi, banyak, dan lama indentasi. Setelah indentasi selesai, maka pada lensa objek akan terlihat gambaran hasil indentasi yaitu berbentuk belah ketupat. Tahap selanjutnya adalah mengukur besarnya diagonal vertikal dan horizontal, setelah pengukuran akan diperoleh nilai kekerasan permukaan dalam satuan *Vickers Hardness Number* (HVN).

2.8.8 Pengaplikasian gel nano kalsium dan pasta CPP-ACP

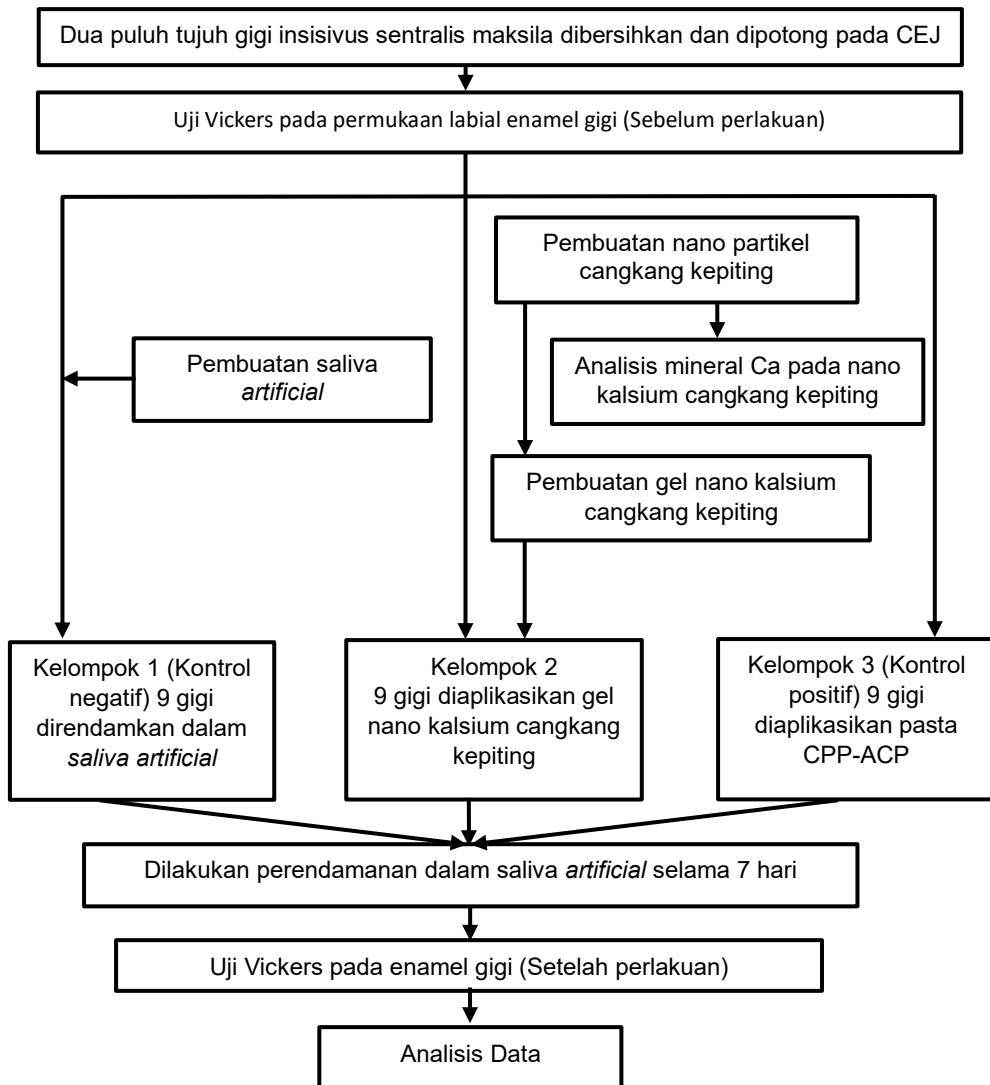
Gel nano kalsium cangkang kepiting dan pasta CPP-ACP diaplikasikan pada permukaan labial gigi menggunakan *microbrush*. Masing-masing dari kelompok 2 dan 3 sebanyak dua kali sehari (Pagi dan Malam) (5 detik/aplikasi) dan didiamkan selama 30 menit, kemudian direndam pada saliva buatan (Kontrol negatif). Perlakuan ini dilakukan selama 7 hari berturut-turut, kemudian

dilanjutkan pengukuran kekerasan mikro enamel kembali menggunakan uji Vickers mengetahui kekerasan enamel setelah pengaplikasian gel nano kalsium cangkang keping.

2.8.9 Analisis Data

Data penelitian merupakan data primer. Uji statistik yang digunakan adalah 1. Uji Normalitas Saphiro-Wilk untuk mengetahui apakah data kekerasan gigi, baik sebelum maupun sesudah perlakuan berdistribusi normal, 2. Uji Homogenitas *Levene's* untuk memperlihatkan bahwa dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki variansi yang sama, 3. Uji ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan antar kelompok, dan Uji Tukey digunakan untuk memastikan antar kelompok mana yang kekerasan mikro enamelnnya berbeda secara signifikan, dengan tingkat kepercayaan 95% ($P < 0,05$). Data ditampilkan dalam bentuk tabel.

2.9 Alur Penelitian



Gambar 2.1. Alur Penelitian