

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 Ekslusi	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 hidrofobisitasnya, 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 kepiting, 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 kepiting 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 kepiting bakau

Bahan cangkang kepiting dibersihkan dibawah air mengalir untuk menghilangkan sisa dari daging kepiting, 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

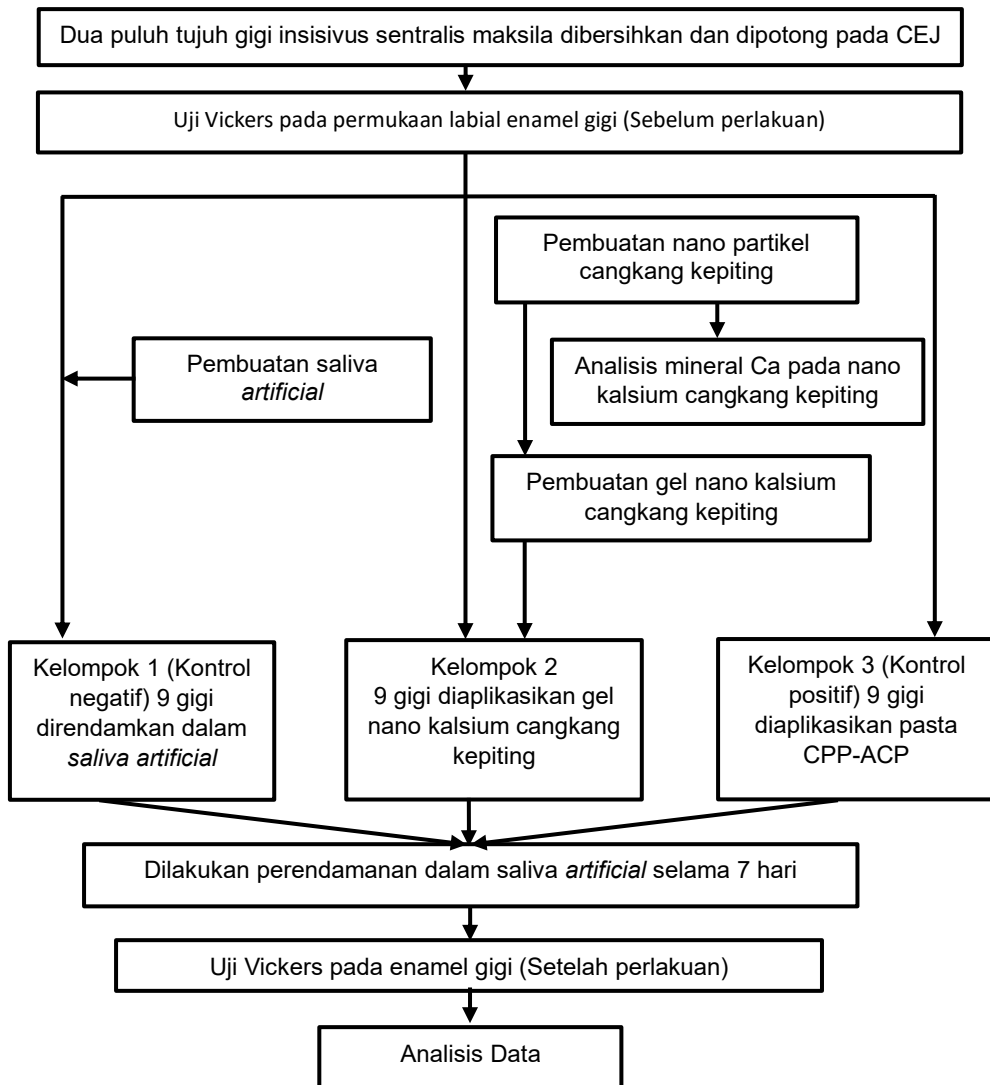
Gel nano kalsium cangkang kepiting dan pasta CPP-ACP diaplikasikan pada permukaan labial gigi menggunakan *microbrush*. Masing-masing dari kelompok 2 dan 3 sebanyak dua kali sehari (Pagi dan Malam) (5 detik/aplikasi) dan didiamkan selama 30 menit, kemudian direndam pada saliva buatan (Kontrol negatif).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

BAB III

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Penelitian

3.1.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

a. Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk mengetahui apakah data kekerasan gigi, baik sebelum maupun sesudah perlakuan berdistribusi normal. Data dapat dikatakan normal, apa bila nilai signifikansi atau $\alpha=0,05$. Berdasarkan hasil uji normalitas untuk data sebelum perlakuan dan setelah perlakuan adalah $P>0,05$ maka menunjukkan data berdistribusi normal.

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan menggunakan uji *Levene's*. Penentuan dalam uji ini di dasarkan pada pendekatan probabilitas dengan tingkat signifikansi atau $\alpha=0,05$. Berdasarkan hasil uji homogenitas untuk data sebelum perlakuan dan setelah perlakuan adalah $P>0,05$ maka menunjukkan data bersifat homogen.

3.1.2 Kadar Kalsium Cangkang Kepiting

Hasil penelitian menggunakan alat Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dengan metode destruksi basah. Diperoleh hasil kadar kalsium pada bubuk nano kalsium cangkang kepiting adalah 124.454,07 $\mu\text{g/g}$ (Tabel 3.1.)

Tabel 3. 1. Kadar Kalsium Cangkang Kepiting

Parameter	Hasil Uji	Satuan
Kalsium (Ca)	124.454,07	$\mu\text{g/g}$.

3.1.3 Kekerasan Mikro Enamel Gigi

Hasil kekerasan mikro enamel gigi pada setiap Kelompok menggunakan alat *Vickers Hardness Tester* tampak pada tabel 3.2.

Tabel 3. 2. Nilai rata-rata dan standar deviasi kekerasan mikro enamel sebelum dan setelah perlakuan dari tiap kelompok

Kelompok	n	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan
		Rata-rata \pm SD	Rata-rata \pm SD
1	9	134,13 \pm 21,77	126,66 \pm 13,32
2	9	137,16 \pm 20,14	135,24 \pm 8.01
3	9	131,80 \pm 14,33	150,43 \pm 13,78

Ket : n = jumlah sampel, 1 = kontrol negatif, 2 = gel nano kalsium cangkang kepingting, 3 = pasta CPP-ACP, SD = Standar deviasi

Berdasarkan Tabel 3.2. diatas dapat disimpulkan :

1. Nilai kekerasan mikro tertinggi sebelum perlakuan terdapat pada kelompok 2, sedangkan nilai terendah terdapat pada kelompok 3.
2. Nilai kekerasan mikro tertinggi setelah perlakuan terdapat pada kelompok 3, sedangkan nilai terendah pada kelompok 1.
3. Secara keseluruhan, terdapat perbedaan kekerasan gigi antara sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Kelompok 1 dan kelompok 2 mengalami penurunan nilai rata-rata (8 & 2) sedangkan kelompok 3 mengalami peningkatan nilai rata-rata (19).

3.1.4 Uji ANOVA

Setelah dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas, maka dilakukan uji ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan signifikan antar kelompok. Dasar pengambilan keputusan dalam uji ANOVA, dapat dilakukan melalui pendekatan probabilitas, signifikansi yang digunakan $\alpha=0,05$.

Tabel 3. 3. Hasil uji ANOVA antar kelompok

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Antar Kelompok	2607,405	2	1303,703	9,066	0,001*
Dalam Kelompok	3451,367	24	143,807		
Total	6058,772	26			

Ket : * = Signifikan pada $P<0,05$

Berdasarkan Tabel 3.3. diketahui nilai signifikan sebesar 0,001 yang menunjukkan $P<0,05$ maka hipotesis nol (H_0) ditolak, yang berarti terdapat perbedaan rata-rata kekerasan mikro enamel gigi antar kelompok setelah perlakuan.

3.1.5 Uji Tukey

Oleh karena hasil uji ANOVA signifikan ($P < 0,05$) dilakukan uji selanjutnya dengan menggunakan uji Tukey untuk memastikan antar kelompok mana yang kekerasan mikro enamelnya berbeda secara signifikan.

Tabel 3. 4. Hasil Uji Tukey pada kelompok setelah perlakuan

Kelompok	Pembanding	Beda Rata-Rata	Sig.
1	2	-8,578	0,301
	3	-23,767	0,001*
2	1	8,578	0,301
	3	-15,189	0,033*
3	1	23,767	0,001*
	2	15,189	0,033*

Ket : * = Signifikan pada $P < 0,05$

Berdasarkan Tabel 3.4. diatas dapat disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok 1 (Kontrol negatif) dengan kelompok 3 (Pasta CPP-ACP) dan kelompok 2 (Gel nano kalsium cangkang kepiting) dengan kelompok 3 (Pasta CPP-ACP).

3.2 Pembahasan

Enamel merupakan struktur kristalin yang memiliki struktur nano dan tersusun dengan unik, terdiri dari komponen anorganik 96% dan komponen organik 4% (Scheid *et al*, 2012). Komponen anorganik pada enamel terdiri dari kalsium, fosfat, dan ion hidroksil, serta sisa bahan anorganik lainnya yaitu Mg, Na, K, CO₃, Fe, Cl dan Flour sekitar 0,02% (Jayasudha *et al*, 2014). Komponen tersisa dari enamel gigi mencakup bahan organik yaitu protein matriks, karbohidrat, selulosa, keratin, lemak sebesar 1%-2% dan air 4%-12% (Wahyuni *et al*, 2022). Salah satu mineral yang sangat penting untuk pembentukan gigi adalah kalsium. Kekurangan kalsium dapat mengganggu proses pembentukan dan pertumbuhan gigi. Selain itu, kandungan kalsium dalam gigi juga akan berpengaruh terhadap tingkat kekerasan gigi (Komariah dan Alamsyah, 2015).

Dalam penelitian ini, kadar kalsium pada ekstrak cangkang nano kalsium dianalisis menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom dan hasil yang diperoleh adalah 124454,07 µg/g. Hasil ini jauh lebih besar dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Lakshmi tahun 2022 yang melaporkan bahwa cangkang kepiting bakau mengandung kalsium sebanyak 2,346 µg/g. (Lakshmi, 2022) Selain itu, penelitian oleh Islam *et al* tahun 2022, menunjukkan bahwa jenis kelamin dan penggemukan kepiting bakau lebih banyak mengandung kadar kalsium, dengan kadar kalsium masing-masing sebesar 1199,71 µg/100g pada jantan dan 903,2 µg/100g pada betina (Islam T, 2022).

Namun hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaplikasian gel nano kalsium cangkang kepiting tidak menghasilkan peningkatan kekerasan yang signifikan. Pada kelompok gel nano kalsium cangkang kepiting hanya 6 dari 9 sampel yang mengalami peningkatan kekerasan dengan rata-rata 135.24 HVN.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahardjo dkk tahun 2015 bahwa nano kalsium berpotensi lebih meningkatkan remineralisasi pada enamel karena nano memiliki sifat retensi yang baik pada permukaan rongga mulut karena ukuran parsial koloidnya, diikuti oleh pengiriman ion kalsium. Nano kalsium juga dapat meningkatkan pH cairan di sekitar rongga mulut (Rahardjo *et al*, 2015). Diperkuat dengan penelitian yang dilakukan Octarina dan Meilita pada tahun 2019 bahwa nano kalsium dapat mencegah demineralisasi karena asam serta kemampuan absorpsi nano kalsium dapat mengisi lubang demineralisasi. Semakin lama penyikatan dengan pasta gigi dengan kandungan nano kalsium dan nano kitosan akan meningkatkan kekerasan permukaan enamel (Octarina & Meilita, 2019)

Pada kelompok perlakuan menggunakan pasta CPP-ACP terdapat 8 dari 9 sampel gigi mengalami peningkatan dengan rata-rata 150.43 HVN sehingga terlihat perbedaan rata-rata kekerasan yang signifikan dari sebelum diberi perlakuan. Hal ini didukung oleh teori yang dipaparkan oleh Yuanita T *et al* tahun 2020 bahwa mekanisme CPP-ACP adalah dengan melepaskan ion kalsium dan fosfat dari ACP. Dalam kondisi asam, bentuk ion dapat meningkatkan remineralisasi enamel (Yuanita, 2020) CPP-ACP dapat menembus ke dalam sub-permukaan melalui enamel yang porous. Setelah mencapai lesi sub-permukaan, CPP-ACP akan melepaskan ion kalsium dan fosfat yang kemudian mengendap di dalam enamel rod. CPP memiliki kemampuan pengikatan yang tinggi terhadap kristal apatit sehingga mempercepat terjadinya remineralisasi (Rachmawati, 2019). Kasein menstabilkan ion kalsium dan fosfat dengan melepaskan urutan kecil peptida (CPP) melalui pencernaan enzim parsial. Hal ini mengarah pada pengembangan teknologi remineralisasi berdasarkan kompleks kalsium fluorida fosfat amorf yang distabilkan kasein fosfopeptida (CPP-ACFP) dan kompleks kalsium fosfat amorf yang distabilkan kasein fosfopeptida (CPP-ACP) (Kaur S *et al*, 2023)

Terdapat beberapa faktor yang dapat menyebabkan kelompok aplikasi gel nano kalsium dari cangkang kepiting tidak menunjukkan peningkatan kekerasan enamel yang signifikan. Hal ini dapat disebabkan karena deposisi mineral enamel yang dipengaruhi oleh faktor lama kontak bahan remineralisasi dengan gigi, serta jenis sediaan bahan remineralisasi. Difusi mineral dapat terhambat apabila lapisan terluar telah termineralisasi lebih dulu sehingga remineralisasi yang optimal tidak dapat tercapai. (Amalina *et al*, 2021). Pada saat pemeriksaan menggunakan *Vickers Hardness Tester*, perbedaan nilai kekerasan yang diukur dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti preparasi sampel, posisi indentor, dan kemungkinan terjadi kesalahan pembacaan terhadap panjang diagonal (Sutanti V *et al*, 2021). Kandungan kadar kalsium dalam cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) yang diteliti belum terbukti lebih tinggi dari kadar kalsium dari cangkang krustase lainnya, kemudian usia kepiting dapat mempengaruhi kadar kalsium. Kepiting yang lebih tua dapat memiliki konsentrasi kadar kalsium yang lebih tinggi sehingga potensi remineralisasi tidak maksimal serta mempengaruhi efektivitas bahan dalam meningkatkan kekerasan mikro enamel.

Frekuensi dan durasi aplikasi juga dapat mempengaruhi peningkatan kekerasan enamel, pemberian agen remineralisasi yang kurang optimal akan mengurangi efektivitas penetrasi ion kalsium dan fosfat.

BAB IV

PENUTUP

4.1 Kesimpulan

Gel nano kalsium cangkang kepiting pada penelitian ini tidak menunjukkan peningkatan kekerasan mikro enamel gigi secara *in vitro*.

4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai usia dari kepiting, membandingkan kadar kalsium pada cangkang kepiting dengan cangkang krustase lainnya, memperhatikan frekuensi dan durasi pengaplikasian, pengambilan sampel inklusi homogen agar menghasilkan nilai kekerasan yang lebih valid, dan mencari penelitian aspek lain dari cangkang kepiting di bidang kedokteran gigi.

DAFTAR ISI

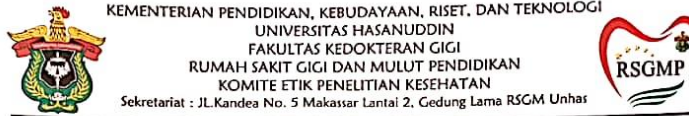
- Amalina R, Monica D, Feranisa A, Syafaat FY, Sari M, Yusuf Y., 2021. Pembuatan Gel Hidroksiapatit Cangkang Kerang-Simping (*Amusium Pleuronectes*) Dan Pengaruhnya Setelah Aplikasi Di Lesi White-Spot Email Gigi. *CDJ*. 13(2), 81-87
- Andriyani A, Putri N, Lusida N, Ernyasih E, Rosyada D, Jaksa S. 2023. Faktor Yang Berhubungan Dengan Perilaku Orangtua Dalam Pencegahan Karies Gigi Anak Di Jakarta Timur. *JKK*. 19(1), 11–17.
- Fahriion A. 2022.Oral Health [Online]. WHO. Diambil dari : <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/oral-health> [26 November 2024].
- Fajri F, Thaib A, Handayani L. 2019. Penambahan mineral kalsium dari cangkang kepiting bakau (*Scylla Serrata*) pada pakan terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang galah (*Macrobrachium Rosenbergii*). *Depik*. 8(3), 185–192.
- Gao H, Chen H, Chen W, Tao F, zheng Y, Jiang Y, et al. 2007. Effect Of Nanometer Pearl Power On Calcium Absorption And Utilization In Rats. *J.Foodchem*. 109, 493-498
- Husyaerry M, Setiawan AS. 2018. Efektivitas Partikel Nano Dalam Pencegahan Karies. *IJoP*. 1(1), 111–113.
- Islam T, Saha D, Bhowmik S, Nordin N, Islam S, Nur AAU, Begus M. 2022. Nutritional Properties Of Wild And Fattening Mud Crab (*Scylla Serrata*) In The South-Eastern District Of Bangladesh. *Heliyon*. 8(6).
- Jayasudha, Baswaraj, Navin HK, Prasanna KB. 2014. Enamel regeneration - current progress and challenges. *J Clin Diagn Res*. 8(9), 6–9.
- Kaur S, Gupta S, Mehra M, Sadana G, Gupta T, Grover R. 2023. Remineralization of Tooth: a literature review. *J. Pharm. Res. Int*. 35(8), 15-22.
- Komariah A, Alamsyah N. 2015. Pengaruh Pemberian Nano Kalsium Dari Eksoskeleton Kepiting Bakau (*Scylla SP.*) Selama Masa Kebuntingan Dan Laktasi Terhadap Kekerasan Gigi Tikus (F1). In Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS 2015.
- Lakshmi VD. 2022. Study On Mineral Composition Of Mud Crab *Scylla serrata*. *J Integral Sci*. 5(4), 22-23
- Lesmana H, Sitanaya RI, Yunus SI, Septa B, Hadrin N. 2022. Penggunaan Casein Phospopeptide Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) Terhadap Perubahan pH Saliva Pada Warga Binaan Rutan Kelas IIB Kolaka, Sulawesi Tenggara. *Medgigi*. 21(2), 37-43
- Octarina O, Meilita R. 2019 . Pengaruh pasta gigi dengan kandungan nano kalsium dan nano kitosan terhadap kekerasan permukaan email. Prosiding Seminar Nasional Pakar; Mar 1. 1.2.1-1.2.6.

- Octarina O, Rey S, Komariah K. 2018. The Effect Of Toothpaste With Nanocalcium And Nanochitosan On Oral Cavity Microorganism (in vivo). *JMKG*. 7(1), 35–41.
- Rachmawati D, Kurniawati C, Hakim L, Roeswahjuni N. 2019. Efek Remineralisasi Casein Phosopeptide-Amorphous Calcium Phospate (CPP-ACP) Terhadap Enamel Gigi Sulung. *E-Prodenta J. Dent*. 3(2), 257-262
- Rahardjo A, Nugraheni DDT, Humaira G, Adiatman M, Maharani DA. 2015. Efficacy Of Toothpaste Containing Nano Calcium In Dentin Remineralization. *Makara J. Health*. 19(2), 43-47.
- Rahayu Y. 2022. Peran Agen Remineralisasi Pada Lesi Karies Dini. *Stoma*. 10(1), 25–30.
- Salsabila S, Agusmawanti P, Muhtar M. 2022. Perbedaan Pengaruh Pengaplikasian Gel Nano Kalsium Dan Mikro Kalsium Cangkang Telur Bebek (*Anas Platyrhincus Domesticus*) Terhadap Mikroporositas Enamel. *JIMU*. 1(1), 1021–1029.
- Suptijah P, Jacob AM, Deviyanti N. 2012. Karakterisasi Dan Bioavailabilitas Nanokalsium Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus Vannamei*). *Akuatika*. 3(1): 63–73.
- Sutanti V, Rachmawati YL, Milla LE, Ningtyas DC. 2022. Pengaruh Susu Terhadap Kekerasan Enamel Gigi: Studi Literatur. *E-Prodenta*. 6(2), 680–698.
- Sutanti V, Manzila N, Milla LE, Hartami E. 2021. Peran Kasein Susu Kambing Peranakan Etawa Terhadap Peningkatan Kekerasan Enamel Gigi Sulung. *E-Prodenta J. Dent*. 5(1), 384-392
- Setyawati A, Waladiyah F. 2019. Porositas Email Gigi Sebelum Dan Sesudah Aplikasi Pasta Cangkang Telur Ayam Negeri. *JKG*. 31(3), 221–227.
- Scheid RC, Weiss G. 2012. *Woelfel's Dental Anatomy*. 8th Edition. Philadelphia, Wolters Kluwer.
- Wahyuni S, Bikarindasari R, Nur Fauzia M. 2022. The Effect Of Isotonic Solution Immersion On Tooth Enamel Hardness After Topical Application Of CPP-ACPF And fTCP. *JKG*. 9(1),42–46.
- Yuanita T, Zubaidah N, A R MI. 2020. Enamel Hardness Differences After Topical Application Of Theobromine Gel And Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate. *CDJ*. 10(1), 5-8.

LAMPIRAN

Lampiran 1

Persetujuan Etik



REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK

Nomor: 0157/PL.09/KEPK FKG-RSGM UNHAS/2024

Tanggal: 9 Juli 2024

Dengan ini menyatakan bahwa protokol dan dokumen yang berhubungan dengan protokol berikut ini telah mendapatkan persetujuan etik:

No. Protokol	UH 17121167	No Protokol Sponsor	
Peneliti Utama	Rafiqah Khusnul Khafidha	Sponsor	Pribadi
Judul Peneliti	Pemanfaatan Nano Kalsium Cangkang Kepiting Bakau (Scylla Serrata) terhadap Kekerasan Enamel Gigi (Penelitian In vitro)		
No. Versi Protokol	1	Tanggal Versi	12 Juni 2024
No. Versi Protokol		Tanggal Versi	
Tempat Penelitian	Laboratorium Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin, Laboratorium Pengujian Kimia Politeknik Pertanian Negeri Fangkajene, Laboratorium Mekanik Politeknik Negeri Ujung Pandang, Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar		
Dokumen Lain			
Jenis Review	<input checked="" type="checkbox"/> Exempted Review <input type="checkbox"/> Expedited Review <input type="checkbox"/> Fullboard Review	Masa Berlaku 9 Juli 2024 - 9 Juli 2025	Frekuensi Review Lanjutan
Ketua Komisi Etik Penelitian	Nama: drg.Erni Marlina, Ph.D., Sp.PM., SubSp.Inf (K)	Tanda Tangan 	Tanggal 9 Juli 2024
Sekretaris Komisi Etik Penelitian	Nama: drg. Muhammad Iqbal, Sp.Prof	Tanda Tangan 	Tanggal 9 Juli 2024

Kewajiban peneliti utama:

- Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum diimplementasikan
- Menyerahkan laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan lapor SUSAR dalam 72 jam setelah peneliti utama menerima laporan.
- Menyerahkan laporan kemajuan (*progress report*) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah.
- Menyerahkan laporan akhir setelah penelitian berakhir.
- Melaporkan penyimpangan dari protokol yang disetujui (*protocol deviation/violation*)
- Mematuhi semua aturan yang berlaku.

Lampiran 2

Izin Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jalan Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar 90245
Telepon (0411) 586012, Faximile (0411) 584641
Laman www.unhas.ac.id Email fdhu@unhas.ac.id

Nomor : 03326/UN4.13/PT.01.04/2024
Hal : Izin Penelitian

26 Juni 2024

Yth.

1. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin
2. Pimpinan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar
3. Kepala Laboratorium Pengujian Kimia Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene
4. Kepala Laboratorium Mekanik Politeknik Negeri Ujung Pandang

di -
Tempat

Dengan hormat, kami sampaikan bahwa mahasiswa **Program Studi Pendidikan Dokter Gigi (S1)** Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin bermaksud melakukan penelitian dalam rangka penyelesaian tugas akhir (Skripsi).

Sehubungan dengan hal tersebut, mohon kiranya dapat diberikan **izin penelitian** kepada mahasiswa di bawah ini:

Nama / NIM : **Rafiqah Khusnul Khafidha / J011211084**
Waktu Penelitian : Mei s.d. Juli 2024
Tempat Penelitian : Laboratorium Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin, Laboratorium Pengujian Kimia Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene, Laboratorium Mekanik Politeknik Negeri Ujung Pandang, dan Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar
Pembimbing : Prof. Dr. Ardo, drg., M.Kes.
Judul Penelitian : Pemanfaatan Nano Kalsium Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla Serrata*) terhadap Kekerasan Enamel Gigi (Penelitian *In vitro*)

Demikian permohonan kami, atas perhatian dan kerja sama yang baik diucapkan terima kasih.

a.n. Dekan,
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan



Acing Habibie Mude, drg., Ph.D., Sp.Pro., Subsp. OGST(K).
NIP 198102072008121002

Tembusan:

1. Kepala Bagian Tata Usaha FKG Unhas;
2. Kepala Laboratorium Konservasi FKG Unhas.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
 POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PANGKAJENE DAN KEPULAUAN
 JURUSAN TEKNOLOGI
 LABORATORIUM PENGUJIAN KIMIA
 Jl. Poros Makassar Pare KM. 83 Mandalle Kec. Mandalle Kab. Pangkep
 Telepon. (0410)2312704, 2312703 FAX.(0410)2312705
 SULAWESI SELATAN (90655)

SURAT KETERANGAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan bahwa telah dilakukan penelitian **Ekstraksi Nano Kalsium Cangkang Kepiting Bakau** di Laboratorium Pengujian Kimia, Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan pada tanggal 15 sampai 22 Juli 2024 dalam rangka penyelesaian skripsi mahasiswa atas nama:

Nama : Rafiqah Khusnul Khalidha
 NIM : J011211084
 Fakultas : Gigi
 Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi (S1)
 Perguruan Tinggi : Universitas Hasanuddin
 Judul Skripsi : Pemanfaatan Nano Kalsium
 Cangkang Kepiting Bakau
 (Scylla serrata) terhadap
 Kekerasan Enamel Gigi
 (Penelitian in vitro)

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya

Pangkep, 22 Juli 2024

Penanggung jawab Lab. Pengujian Kimia



Sahriawati, S.Pi., MT

NIP. 197507052002122002



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET, DAN TEKNOLOGI
POLITEKNIK NEGERI UJUNG PANDANG**

Jalan Perintis Kemerdekaan Km. 10 Tamalanrea, Makassar 90245
Telepon : (0411)-585365, 585367, 585368; Faksimili : (0411)-586043
Laman : www.poliupg.ac.id Email : pnup@poliupg.ac.id

**LABORATORIUM MEKANIK
JURUSAN TEKNIK MESIN
POLITEKNIK NEGERI UJUNG PANDANG**

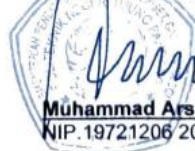
SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, menerangkan bahwa telah dilakukan Penelitian pengujian kekerasan Emamel Gigi di Laboratorium Mekanik Jurusan Teknik Mesin Politeknik Negeri Ujung Pandang pada tanggal 02 Agustus 2024 s.d 21 Oktober 2024 dalam rangka penyelesaian skripsi mahasiswa atas nama:

Nama : Rafiqah Khusnul Khafidha
NIM : J011211084
Fakultas : Kedokteran Gigi
Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi (S1)
Perguruan Tinggi : Universitas Hasanuddin
Judul Skripsi : Pemanfaatan Nano Kalsium Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla Serrata*) terhadap Kekerasan Enamel Gigi (Penelitian *In vitro*)

Adapun data hasil pengujian terlampir. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 22 Oktober 2024
Peranggung Jawab Pengujian Material
Jurusan Teknik Mesin



Muhammad Arsyad Suyuti, S.T., M.T
NIP. 19721206 200212 1 004

Lampiran 3

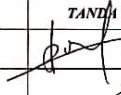
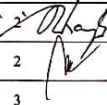
Daftar Hadir



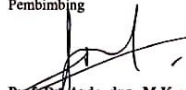
KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
DEPARTEMEN KONSERVASI
Kampus Unhas Daraya, Jl. Kande'a no.5 Makassar
Telp(0411) 3616336, 3620022

PDAFTAR HADIR DOSEN PEMBIMBING/PENGUJI SEMINAR HASIL SKRIPSI MAHASISWA S1 ANGGKATAN 2021

Nama : Rafiqah Khusnul Khafidha Misbahuddin
Stambuk : J011211084
Hari/Tanggal : Rabu, 24 April 2024
Waktu : 08.00 - 10.00 Wita selesai
Tempat : Ruang S2 FKG Unhas.
Judul : Pemanfaatan Nano Kalsium Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla Serrata*) terhadap Keckerasan Enamel Gigi (*Penelitian In Vitro*)

NO	NAMA DOSEN	TANDA TANGAN
1	Ardo Sahr	 1
2	Nurhayati Nektar	 2
2	Mama	2
3		3
4		4
5		5

Pembimbing



Prof. Dr. Ardo, drg., M.Kes.
NIP 197007121998021002

DAFTAR HADIR		No. Dokumen Undangan
		No. Revisi
		Tgl. Berkas Undangan
		Halaman
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNHAS		
ACARA : Ujian Hasil Skripsi Departemen Konservasi		
TEMPAT : Ruang Kuliah Ex. Ekonomi Kandeia		
HARI/TANGGAL : Jumat, 29 November 2024		
Waktu : 09.00 Wita - Selesai		
NO	NAMA	
1	Maria Tama Nihandya	1
2	Pnt. Aris Sabir	2
3	Nurhayati Natsir	3
4		4
5		5
6		6
7		7
8		8
9		9
10		10

Lampiran 4**Pernyataan Tidak Afiliasi dengan Organisasi Komersial****PERNYATAAN**

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

NAMA : Rafiqah Khusnul Khafidha M

NIM : J011211084

Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar, yang telah melakukan penelitian dengan judul "Pemanfaatan nano kalsium cangkang kepiting bakau (*Scylla serrata*) terhadap kekerasan enamel gigi (Penelitian In Vitro) dalam rangka menyelesaikan Program Pendidikan Strata 1.

Dengan ini menyatakan bahwa saya tidak mempunyai afiliasi atau keterkaitan apapun dengan organisasi komersial yang berkaitan secara langsung ataupun tidak langsung sehubungan dengan penggunaan bahan uji yang digunakan pada penelitian ini.

Makassar, 29 November 2024

Rafiqah Khusnul Khafidha

Lampiran 5

Alat dan Bahan



Kepiting Bakau



Vickers Hardnes
Tester



Spektrofotometri
Serapan atom



Carborundum disc



Bubuk Nanokalsium
Cangkang Kepiting



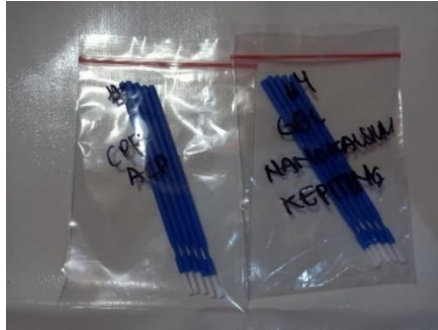
Gel Nanokalsium
Cangkang Kepiting



Pasta CPP-ACP



Saliva Buatan



Microbrush

Lampiran 5

Prosedur Penelitian



Penimbangan sampel cangkang kepiting



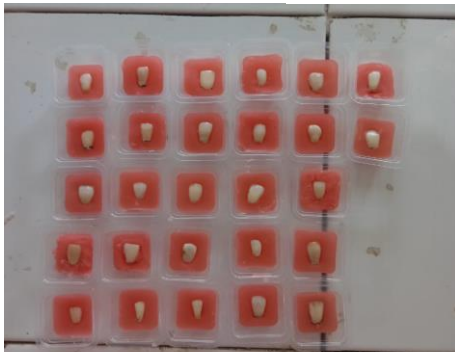
Sampel dipindahkan kedalam erlenmeyer



Sampel ditambahkan HCl 1N



Sampel yang telah menjadi pasta dikerigkan dalam oven suhu 650°C



27 sampel gigi insisivus rahang atas yang telah dipotong dan ditanam dalam akrilik



Uji *Vickers Hardnes Tester* pada salah satu sampel gigi



Penimbangan Bubuk nano kalsium cangkang kepiting



Bubuk dicampurkan Asam Nitrat 10 mL kemudian dipanaskan diatas *hotplate*


Lampiran 5

Data Mentah Uji *Vickers Hardness Tester*

No.	Nilai Kalibrasi	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan	
	Kekerasan (HV)	Kekerasan Terbaca Pada Alat Uji Kekerasan	Kekerasan Gigi	Kekerasan Terbaca Pada Alat Uji Kekerasan	Kekerasan Gigi
			HV		HV
1	80,02	52,2	132,22	58	138,02
2	80,02	54,5	134,52	43,7	123,72
3	80,02	36,5	116,52	35,1	115,12
4	80,02	53,5	133,52	58,7	138,72
5	80,02	79,7	159,72	51,6	131,62
6	80,02	91,1	171,12	89,4	169,42
7	80,02	42,6	122,62	33,9	113,92
8	80,02	21,2	101,22	32,1	112,12
9	80,02	43,7	123,72	37,3	117,32
10	80,02	55,2	135,22	62	142,02
11	80,02	51,6	131,62	38	118,02
12	80,02	56,9	136,92	66,7	146,72
13	80,02	74,5	154,52	52,9	132,92
14	80,02	25,1	105,12	41,3	121,32
15	80,02	41,3	121,32	41,5	121,52
16	80,02	75,5	155,52	56,6	136,62
17	80,02	43,7	123,72	46,6	126,62

18	80,02	90,5	170,52	71,4	151,42
19	80,02	33,7	113,72	49,9	159,92
20	80,02	49,7	129,72	63,6	143,62
21	80,02	42,1	122,12	30,4	140,42
22	80,02	94,9	174,92	66,3	166,32
23	80,02	52,2	132,22	69,5	155,52
24	80,02	65,7	145,72	61,3	141,32
25	80,02	65,5	145,52	60,2	172,22
26	80,02	35,1	115,12	30,2	130,22
27	80,02	47,1	127,12	64,3	144,32
Rata-Rata			134,66		137,45

Keterangan :

	: Kelompok 1
	: Kelompok 2
	: Kelompok 3

Lampiran 7

Analisis Data

Sebelum Perlakuan

a. Uji Deskriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	9	1.3413E2	21.76772	7.25591	117.3990	150.8633	101.22	171.12
2	9	1.3716E2	20.13691	6.71230	121.6858	152.6430	105.12	170.52
3	9	1.3180E2	14.32548	4.77516	120.7862	142.8093	113.72	154.92
Total	27	1.3436E2	18.40435	3.54192	127.0839	141.6450	101.22	171.12

b. Uji Normalitas

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sebelum	1	.160	9	.200*	.973	9	.917
	2	.172	9	.200*	.974	9	.923
	3	.164	9	.200*	.941	9	.589

c. Uji Homogenitas

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Sebelum	Based on Mean	.536	2	24	.592
	Based on Median	.488	2	24	.620
	Based on Median and with adjusted df	.488	2	21.447	.621
	Based on trimmed mean	.533	2	24	.594

d. Uji Anova

Sebelum					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	130.340	2	65.170	.180	.836
Within Groups	8676.387	24	361.516		
Total	8806.727	26			

- Uji Tukey HSD

(I) Kelom pok	(J) Kelom pok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-3.03333	8.96309	.939	-25.4167	19.3501
	3	2.33333	8.96309	.963	-20.0501	24.7167
2	1	3.03333	8.96309	.939	-19.3501	25.4167
	3	5.36667	8.96309	.822	-17.0167	27.7501
3	1	-2.33333	8.96309	.963	-24.7167	20.0501
	2	-5.36667	8.96309	.822	-27.7501	17.0167

Setelah Perlakuan

a. Uji Deskriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	9	1.2666E2	13.32236	4.44079	116.4240	136.9049	112.12	149.42
2	9	1.3524E2	8.00684	2.66895	129.0876	141.3968	121.32	146.72
3	9	1.5043E2	13.77774	4.59258	139.8406	161.0216	130.22	172.22
Total	27	1.3745E2	15.26531	2.93781	131.4072	143.4847	112.12	172.22

b. Uji Normalitas

	Kelom pok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sesudah	1	.203	9	.200*	.908	9	.299
	2	.124	9	.200*	.978	9	.951
	3	.227	9	.200*	.948	9	.667

c. Uji Homogenitas

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Sesudah	Based on Mean	2.666	2	24	.090
	Based on Median	1.207	2	24	.317
	Based on Median and with adjusted df	1.207	2	18.582	.321
	Based on trimmed mean	2.593	2	24	.096

d. Uji Anova

Sesudah					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2607.405	2	1303.703	9.066	.001
Within Groups	3451.367	24	143.807		
Total	6058.772	26			

- Uji Tukey HSD

(I) Kelom pok	(J) Kelom pok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-8.57778	5.65306	.301	-22.6951	5.5395
	3	-23.76667*	5.65306	.001	-37.8840	-9.6494
2	1	8.57778	5.65306	.301	-5.5395	22.6951
	3	-15.18889*	5.65306	.033	-29.3062	-1.0716
3	1	23.76667*	5.65306	.001	9.6494	37.8840
	2	15.18889*	5.65306	.033	1.0716	29.3062