

Pemanfaatan cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dalam remineralisasi gigi sulung

Ambar Puspitasari¹, Prasetyo Adi², Devinta F. Rubai¹

¹Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Latar belakang: Kehilangan kalsium akan menyebabkan ketidakaturan mikroporositas pada permukaan enamel gigi sulung. Demineralisasi enamel yang dibiarkan dapat menyebabkan terjadinya karies gigi. Cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) memiliki kandungan kalsium yang cukup tinggi yaitu 97% sehingga kandungan kalsium pada cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) ini berpotensi sebagai bahan remineralisasi enamel.

Tujuan: untuk membuktikan bahwa cangkang kerang darah dapat remineralisasi enamel gigi sulung.

Metode: Penelitian ini adalah true experimental randomized post test only controlled group design secara in vitro. Sampel yang digunakan adalah gigi insisivus sulung rahang bawah yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu K- (Tanpa demineralisasi, tanpa kalsium), K+ (Demineralisasi, tanpa kalsium), P1 (Demineralisasi + Kalsium 1 mmol), P2 (Demineralisasi + Kalsium 3 mmol), P3

(Demineralisasi + Kalsium 5 mmol). Gigi dilakukan pH-cycling selama 5 hari untuk mendapatkan mikroporositas enamel kemudian gigi direndam dalam larutan kalsium selama 14 hari selanjutnya dilakukan pengukuran lebar mikroporositas enamel dengan menggunakan Scanning Electron Microscope.

Hasil: uji One Way Anova menunjukkan perbedaan diameter mikroporositas yang bermakna antar kelompok perlakuan. Uji Post-hoc Tukey menunjukkan diameter mikroporositas enamel paling kecil pada kelompok perlakuan P3. Uji Korelasi Pearson menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis kalsium yang diberikan, maka semakin kecil diameter mikroporositas enamel. Dan uji Regresi menunjukkan bahwa cangkang kerang darah dapat remineralisasi enamel gigi sulung.

Kesimpulan: kalsium dari cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dapat remineralisasi enamel gigi sulung.

Kata kunci : Cangkang kerang darah, gigi sulung, enamel, kalsium, mikroporositas

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan bagian dari tubuh manusia yang penting untuk dijaga. Saat ini masalah kesehatan gigi dan mulut yang paling banyak terjadi adalah karies. Prevalensi karies gigi pada anak-anak di Indonesia mencapai 90% hal ini menunjukkan bahwa karies merupakan masalah yang serius dalam bidang kesehatan gigi dan mulut. Data ini menunjukkan bahwa upaya pencegahan terhadap masalah karies harus dilakukan.¹

Karies merupakan suatu penyakit yang mengakibatkan demineralisasi, kavitasi, dan hancurnya jaringan keras gigi oleh aktivitas mikroba.² Bakteri dalam rongga mulut mengubah glukosa, fruktosa dan sukrosa menjadi asam melalui proses yang disebut glikolisis. Hal ini menyebabkan pH didalam mulut menurun secara cepat dan meningkatkan ion hidrogen yang akan merusak

hidroksiapatit enamel.³ Ion hidrogen berikatan dengan ion fosfat pada hidroksiapatit menjadi HPO_4^{2-} dimana ion tersebut tidak dapat seimbang dengan ikatan hidroksiapatit normal sehingga sebagian kristal hidroksiapatit enamel akan larut dan menyebabkan enamel menjadi rapuh. Proses demineralisasi dapat dihambat dengan melakukan remineralisasi yaitu menetralkan pH dan mencukupi kebutuhan kalsium dan fosfat untuk mengembalikan mineral-mineral yang telah terurai.⁴

Cangkang kerang darah memiliki kandungan kalsium karbonat (CaCO_3) yang tinggi yakni 98%.⁵ Kalsium pada cangkang kerang darah berpotensi sebagai bahan remineralisasi untuk membentuk kristal hidroksiapatit sehingga enamel gigi akan stabil, kuat dan tahan akan karies.⁶ Maka dari itu diperlukan penelitian mengenai potensi kalsium dari cangkang kerang darah sebagai bahan remineralisasi enamel gigi sulung.

Correspondence:

Ambar Puspitasari
Departemen Ilmu Kedokteran
Gigi Anak, Fakultas
Kedokteran Gigi, Universitas
Brawijaya

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan *true experimental randomized post test only controlled group design* secara *in vitro*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah gigi insisivus sulung rahang bawah yang diindikasikan untuk diekstraksi dari Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak Rumah Sakit Pendidikan Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilakukan di Laboratorium Sentral Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Malang, Laboratorium Teknik Mesin, Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak Rumah Sakit Pendidikan Universitas Brawijaya Malang.

Kalsinasi Cangkang Kerang dilakukan dengan cara limbah cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sebanyak 2 kg dibersihkan dengan akuades dan dikeringkan pada temperatur ruang. Selanjutnya, kalsinasi dilakukan terhadap sampel tersebut pada temperatur 1000°C selama 5 jam.⁶ Setelah itu, CaO hasil kalsinasi dikarakterisasi dengan menggunakan XRF lalu disimpan di dalam botol. Serbuk CaO hasil kalsinasi dilarutkan dengan gliserol sesuai dosis: 1 mmol, 3 mmol, dan 5 mmol.⁷ Sampel gigi berupa 25 gigi insisivus sulung disiapkan dengan cara mahkota gigi dibersihkan, dipisahkan mahkota dari akarnya, dan dibuat window 2x2 mm pada bagian tengah permukaan labial gigi.⁸ Kemudian sampel dilakukan *pH-Cycling* untuk membentuk *caries-like lesion*. Diawali dengan perendaman pada larutan demineralisasi terdiri dari 2,2 mmol/L CaCl₂, 2,2 mmol/L KH₂PO₄ dan 50 mmol/L asam asetat dan penambahan KOH bertujuan untuk mendapatkan pH 4,0, selama 3 jam dan dilanjutkan perendaman pada larutan remineralisasi yang terdiri dari 1,5 mmol/L CaCl₂, 0,9 mmol/L, KH₂PO₄ dan 130 mmol/L KCL dengan pH 7,0 diberikan selama 21 jam. Proses *pH-Cycling* dilakukan selama 5 hari untuk mendapatkan mikroporositas enamel.⁹

Kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 seluruh permukaannya direndam dalam larutan kalsium pada tabung sebanyak 30 ml selama 14 hari.⁷ Lebar mikroporositas enamel diukur menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)*. Pengukuran diameter mikroporositas enamel menggunakan foto yang kemudian dikonversikan dalam satuan mikrometer.¹⁰ Data hasil penelitian diuji distribusi normalitas dan homogenitas varian menggunakan *Levene homogeneity test*, dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*, uji *Post Hoc tukey*, uji korelasi *Pearson* dan uji Regresi

HASIL

Hasil uji XRF membuktikan bahwa kandungan kalsium didalam serbuk hasil kalsinasi cangkang

kerang darah sangat tinggi yaitu 97.85 %. Hasil uji *Scanning Electron Microscope (SEM)* mendapatkan gambaran keadaan mikroporositas enamel dari setiap kelompok sebagai berikut :

Hasil Uji menggunakan *Scanning Electron Microscope (SEM)* mendapatkan hasil rerata mikroporositas enamel pada tabel 2.

Hasil Uji *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan nilai mikroporositas pada tiap kelompok perlakuan. Uji *Post-Hoc Tukey* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dan kontrol positif (p = 0.04). Sedangkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1 tidak terdapat perbedaan yang signifikan (p=0.99). Antara kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang signifikan apabila dibandingkan, sehingga dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa perendaman larutan kalsium cangkang kerang darah dapat mengurangi mikroporositas enamel gigi secara signifikan setelah direndam dalam larutan demineralisasi dengan dosis paling efektif 5 mmol.

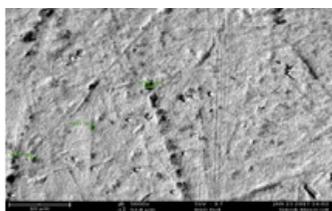
Uji Kolerasi *Pearson* mendapatkan hasil -0,607 yang menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis kalsium yang diberikan maka semakin kecil mikroporositas enamel yang terbentuk. Hasil Uji Regresi mendapatkan nilai *R square (R²)* sebesar 0.37 yang berarti bahwa pengaruh kalsium cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) terhadap mikroporositas enamel sebesar 37%.

Tabel 1. Hasil analisis xrf cangkang kerang darah (*anadara granosa*)

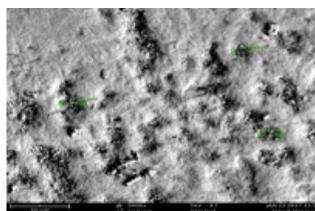
Compound	Conc (%)	Methods
Ca	97.85 ± 0.24	
Ti	0.062 ± 0.002	
Fe	0.14 ± 0.009	
Co	0.092 ± 0.006	
Ni	0.801 ± 0.011	XRF
Cu	0.065 ± 0.004	
Sr	0.79 ± 0.02	
Mo	0.24 ± 0.01	
Er	0.1 ± 0.03	

Tabel 2 nilai rerata diameter mikroporositas enamel

Kelompok	Nilai Rerata Mikroporositas Enamel	Standar Deviasi
Kontrol negatif	1,180 µm	0.40608
Kontrol positif	2,242 µm	1.08391
Perlakuan 1	1,018 µm	0.43545
Perlakuan 2	0,772 µm	0.15897
Perlakuan 3	0,702 µm	0.8955



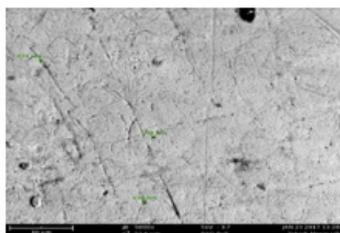
Gambar 1



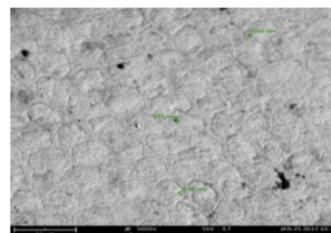
Gambar 2



Gambar 3



Gambar 4



Gambar 5

Keterangan gambar mikroporositas enamel hasil uji sem : Gambar 1. Kelompok kontrol negatif, dengan nilai rerata 1,180 μm ; Gambar 2. Kelompok kontrol positif, dengan nilai rerata 2,242 μm ; Gambar 3. Kelompok perlakuan 1, dengan nilai rerata 1,018 μm ; Gambar 4. Kelompok perlakuan 2, dengan nilai rerata 0,772 μm ; Gambar 5. Kelompok perlakuan 3, dengan nilai rerata 0,702 μm

PEMBAHASAN

Cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) yang dikalsinasi dapat melepaskan ion kalsium yang dapat berpenetrasi ke enamel gigi. Kandungan kalsium pada bahan remineralisasi ini berguna sebagai penyedia cadangan ion kalsium yang akan bekerja untuk menggantikan ion kalsium pada enamel gigi yang mengalami demineralisasi.¹³

Hasil uji SEM (*Scanning electron microscope*) menunjukkan bahwa terjadi pengurangan ukuran besar diameter dari mikroporositas enamel pada kelompok perlakuan. Penurunan ukuran mikroporositas enamel dimulai pada kelompok perlakuan 1 yaitu konsentrasi 1 mmol. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi 1 mmol sudah dapat remineralisasi enamel gigi secara efektif. Penelitian lain membuktikan bahwa konsentrasi efektif dari kalsium yang dibutuhkan untuk remineralisasi enamel 1-3 mmol sedangkan kelompok perlakuan 3 yang menggunakan konsentrasi 5 mmol terjadi pengurangan ukuran mikroporositas namun tidak terlihat perbedaan ukuran yang cukup besar dengan kelompok perlakuan 2, hal ini juga sesuai dengan konsentrasi normal total kalsium yang berada di saliva adalah 1-2,5 mmol/L, kalsium pada saliva berperan dalam menjaga integritas struktur gigi dan remineralisasi gigi, ketika kadar kalsium dalam saliva berkurang dapat menyebabkan demineralisasi.¹¹

Berdasarkan hasil uji *one way Anova*, adanya pengurangan ukuran diameter mikroporositas enamel gigi disebabkan oleh penetrasi kalsium

kedalam lapisan interprismatik enamel yang disebut dengan proses remineralisasi. Proses remineralisasi ini dapat terjadi apabila terdapat kandungan kalsium yang cukup dalam lingkungan remineralisasi, mikroporositas enamel yang terjadi akan terisi kalsium dari cangkang kerang darah karena mikroporositas enamel hanya akan diisi dengan ion mineral yang memiliki jari-jari ionik yang sama dengan jari-jari ionik mineral yang hilang, pergantian mineral pada mikroporositas enamel akan stabil hanya bila ion kalsium dan fosfor yang larut juga tergantikan dengan kedua ion tersebut.¹² Proses remineralisasi dipengaruhi beberapa hal yaitu derajat keasaman daerah sekitar gigi (*pH*), waktu, konsentrasi, dan viskositas larutan yang mengandung ion-ion pendukung remineralisasi. Larutan CaO dengan kandungan kalsium tinggi yakni sebesar $97.85 \pm 0.24\%$ memiliki viskositas yang rendah sehingga memungkinkan terjadinya proses remineralisasi yang optimal karena semakin rendah viskositas larutan maka kandungan kalsium dalam larutan cangkang kerang semakin mudah berpenetrasi kedalam enamel dan mineral yang masuk dapat berdifusi diantara kristal enamel kemudian akan diserap oleh *hypomineralized* enamel.⁷

Hasil uji *Post Hoc Tukey* menunjukkan, kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan dengan kelompok positif namun kalsium dengan konsentrasi 1mmol tidak memiliki perbedaan terhadap kelompok negatif, begitu pula dengan kelompok perlakuan 2 dan 3 tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok negatif.

Hal ini disebabkan oleh kalsium yang berpenetrasi ke enamel sehingga gigi pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 berada dalam kondisi normal. Angka mikroporositas enamel gigi normal adalah 0,2 nm.¹³

Besarnya ukuran mikroporositas yang terbentuk pada kelompok positif diakibatkan oleh pelepasan mineral dari enamel (demineralisasi). Demineralisasi asam fosfor akan mengakibatkan ion hidrogen berikatan dengan ion fosfat pada hidroksiapatit menjadi HPO_4^{2-} dimana ion tersebut tidak dapat seimbang dengan ikatan hidroksiapatit normal karena hidroksiapatit normal mengandung PO_4^{3-} dibandingkan dengan HPO_4^{2-} sehingga sebagian kristal hidroksiapatit enamel akan larut, demineralisasi yang terus menerus akan membentuk pori-pori atau porositas pada permukaan enamel yang sebelumnya tidak ada.⁴

Perendaman gigi di dalam larutan yang bersifat asam menyebabkan pelepasan komponen anorganik, pelepasan komponen anorganik akan menyebabkan penurunan tingkat kekerasan gigi, laju pelepasan komponen anorganik dalam waktu 1 jam pada pH 4,5 yaitu 9,27 ug/g dan setiap penurunan satu satuan pH akan meningkatkan laju pelepasan hingga 19,05 kali. Demineralisasi yang terus menerus akan mengakibatkan terbentuknya pori-pori kecil pada permukaan gigi yang sebelumnya tidak ada.¹⁴

Sifat-sifat fisik dari enamel juga dapat dipengaruhi oleh faktor usia dimana enamel usia muda lebih lunak dibandingkan dengan usia lanjut, terdapat 2 proses terkait usia yang pertama yaitu berkurangnya matriks berprotein karena maturasi dan konsumsi bahan-bahan yang dapat menurunkan pH mulut. Kedua, pajanan terus menerus terhadap ion-ion mineral dan fluoride dalam lingkungan mulut dapat meningkatkan penggantian matriks oleh fluoroapatit, menyebabkan peningkatan kepadatan jaringan serta penurunan permeabilitas enamel, selain itu terdapat faktor-faktor seperti pH, lingkungan cair juga mempengaruhi sifat-sifat fisik seperti modulus elastis, kekerasan serta kekasaran permukaan enamel gigi.¹⁵ Penelitian lain menunjukkan bahwa jumlah kadar kalsium gigi yang terlarut tidak hanya dipengaruhi oleh derajat keasaman (pH), tetapi durasi waktu atau lamanya asam berkontak dengan gigi juga dapat memengaruhi kadar melarutnya kalsium, sehingga terjadi kelarutan kalsium gigi selain itu kandungan asam yang merupakan komponen yang bersifat erosif pada minuman dapat merusak email, aplikasi asam lemah yang berulang-ulang dan teratur pada permukaan gigi juga dapat menghilangkan mineral yang terdapat pada daerah itu.¹⁶ Konsentrasi kalsium dan fosfat yang tinggi akan mengakibatkan presipitasi cepat mineral kalsium dan fosfat pada mikroporositas enamel, dan akan mengakibatkan penutupan mikroporositas enamel.¹⁷

Hasil Uji Regresi yang menunjukkan terdapat pengaruh kalsium cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) terhadap rata-rata diameter mikroporositas enamel sebesar 37%, dapat disebabkan oleh penyimpanan serbuk hasil kalsinasi cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) sehingga kemungkinan dapat berpengaruh pada kandungan kalsium pada serbuk CaO tersebut. Selain itu kemungkinan adanya pengaruh waktu pemberian kalsium yang cukup singkat yaitu 14 hari dimana berdasarkan penelitian proses remineralisasi terjadi pada hari ke 14-21 hari.¹⁸ Selain itu kecilnya pengaruh kalsium cangkang kerang darah juga dapat disebabkan oleh kemungkinan kandungan komponen anorganik yang berbeda-beda dari tiap sampel yang digunakan pada penelitian ini dimana ikatan pada masing-masing sampel yang tidak diketahui apakah lebih banyak fluorapatit atau hidroksiapatit.¹⁴ Remineralisasi enamel tidak selalu dapat terjadi, dimana dalam prosesnya selalu dipengaruhi oleh banyak hal seperti waktu perendaman, supersaturasi larutan terhadap gigi, laju endapan reaktan dan pH larutan. Jika faktor tersebut tidak memenuhi maka remineralisasi akan terhambat.⁴ Ion kalsium adalah mineral inorganik terdapat di dalam tulang dan hidroksiapatit (HA) yang membentuk tulang, deposit kalsium menunjukkan terjadinya suatu proses regenerasi pada tulang dan ditemukan pada hari ke 12 melalui pewarnaan Von Kossa, sedang pada matrik ekstraselluler deposit kalsium mulai ditemukan pada hari ke 14 dan 21.¹¹

Kekurangan kalsium dan fosfat sangat mempengaruhi morfologi enamel gigi hal ini dibuktikan dari penelitian yang dilakukan oleh Vashisht *et al* (2010) dengan *ex-vivo study*, menunjukkan bahwa pasta CCP-ACP (*casein phosphopeptide amorphous calcium Phosphate*) efektif dalam mencegah demineralisasi email. Perubahan signifikan terlihat pada morfologi permukaan enamel selama 14 hari penelitian. Proses remineralisasi melibatkan difusi ion kalsium dan fosfat melalui aliran air kedalam pori permukaan lesi karies. Setelah berdifusi dalam lesi enamel, aktivitas ion kalsium dan fosfat meningkat, sehingga meningkatkan derajat kejenuhan pada kristal hidroksiapatit.¹⁹

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa kalsium dari cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dapat remineralisasi enamel gigi sulung.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) dapat remineralisasi gigi sulung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. Riset Kesehatan Dasar 2013. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta. Hal.114
2. Harty, F.J. dan Ogston, R. 2012. Kamus Kedokteran Gigi. EGC., Jakarta, hal.56.
3. Higham, S.M. 2014. *Caries Process and Prevention Strategies: Demineralization/Remineralization*, (Online), (<http://www.liv.ac.uk>, diakses 22 November 2015).
4. Widyaningtyas, Vienvien, Rahayu, C.Y dan Barid, Izzata. 2014. Analisis Peningkatan Remineralisasi Enamel Gigi setelah Direndam dalam Susu Kedelai Murni (*Glycine max (L.) Merrill*) Menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM), *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*, Jember, Jawa Timur, hal.1-5.
5. Hazmi, Awang A.J., Zuki, A.B.Z., Jalia, A. & Norimah, Y. 2007. Mineral Composition of the Cockle (*Anadara granosa*) Shells of West Coast of Peninsular Malaysia and It's Potential as Biomaterial for Use in Bone Repair. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6 (5) p.591-594.
6. Ningsih, Rini Purwo., Wahyuni, Nelly dan Destiarti, Lia. 2014. Sintesis Hidroksiapatit Dari Cangkang Kerang Kepah (*Polymesoda erosa*) Dengan Variasi Waktu Pengadukan. *JKK*, 3 (1) Hal.22-26. hapus
7. Walupi, Rizqi, Effendi, Muhamad Chair dan Kumala, Yuliana Ratna. 2014. Pengaruh Kalsium Dari Cangkang Telur Ayam Terhadap Kekerasan dan Kekasaran Permukaan Enamel gigi (Studi In Vitro). Skripsi tidak diterbitkan. Malang : Universitas Brawijaya. Hal : 21-28.
8. Aminabadi, Naser-Asl, Najafpour, Ebrahim, Samiei, Mohamad, Erfanparast, Leila, Anoush, Somayeh, Jamali, Zahra, Azar, Fatemeh & Ghertasi, Sina. 2015. Laser-Casein phosphopeptide effect on remineralization of early enamel lesions in primary teeth. *Journal Biomaterials and Bioengineering in Dentistry*, 7(2) : e261-e267.
9. Arnaud, T.M.S, Neto, B.D.N, Diniz, F.B. 2010. Chitosan Effect On Dental Enamel De-Remineralization An In Vitro Evaluation. *Journal Of Dentistry*, (38) : 848-852.
10. Nuzulia, Esti. 2010. Efektifitas Air Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Dalam Membentuk Mikroporositas Enamel. Skripsi. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Jawa Timur. Hal.34-37
11. Selviani, Yusri., et al. 2016. *Inorganic Component Of Saliva During Fasting and After Fast Break*. *Journal of Dentomaxillofacial Science*, 1 (2) : 277-281
12. Widyaningtyas, Vienvien, Rahayu, C.Y dan Barid, Izzata. 2014. Analisis Peningkatan Remineralisasi Enamel Gigi setelah Direndam dalam Susu Kedelai Murni (*Glycine max (L.) Merrill*) Menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM), *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*, Jember, Jawa Timur, hal.1-5
13. Teaford, M.F., et al. 2007. *Development, function and evolution of teeth*. Cambridge University., Cambridge, p.244-245.
14. Fitriana. 2012. Analisis Tingkat Kekerasan Gigi Pada Simulasi Karies Gigi Dengan Inhibisi Ekstrak Daun Sirih. Skripsi. Tidak Diterbitkan, Universitas Jember, Jember, Hal. 53-56.
15. Megantoro, Aryo. 2008. Pengaruh Xylitol terhadap Proses Remineralisasi Email: Analisis Kualitatif Struktur Permukaan Email Gigi Menggunakan SEM. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Universitas Indonesia, Jakarta. Hal.5-9.
16. Panigoro, Syahril., dkk. 2015. Kadar Kalsium Yang Terlarut Pada Perendaman Minuman Isotonik. *Journal E-Gigi*, 3 (2) : 356-360.
17. Godoy, Franklin Gracia & Hicks, M. John. Maintaining The Integrity of Enamel Surface. *The Journal of American Dental Association*. 2008; 139. 315-325.
18. Rokhmah, A. 2010 .Efek Pemberian Silika Dari Limbah Sekam Padi (*Oriza satifa*) Terhadap Proses Remineralisasi Enamel Gigi. Skripsi tidak diterbitkan. Jember : Universitas Jember.
19. Vashisht, Ruchi., Kumar, Anil., Indira, R. 2010. Remineralization of early enamel lesions using casein phosphopeptide amorphous calcium Phosphate: An ex-vivo study.*Contemporary Clinical Dentistry*, (1) : 210-213.