

Porositas email gigi sebelum dan sesudah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri

Any Setyawati^{1*}, Farokhah Waladiyah¹

¹Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Indonesia

*Korespondensi: evakg_96@yahoo.co.id

Submisi: 30 Agustus 2019; Penerimaan: 24 Desember 2019; Publikasi online: 31 Desember 2019

DOI: [10.24198/jkg.v31i3.25413](https://doi.org/10.24198/jkg.v31i3.25413)

ABSTRAK

Pendahuluan: Email sebagai jaringan terkeras tubuh manusia tersusun dari jutaan prisma email yang berisi hidroksiapatit. Adanya produk asam mikrobial dapat menyebabkan hidroksiapatit berkurang yang ditandai dengan terbentuknya porositas pada email gigi. Porositas ini dapat diperbaiki menggunakan bahan yang mengandung kalsium dan fosfat. Salah satu bahan alam yang tinggi akan kalsium adalah cangkang telur ayam negeri, yaitu mengandung kalsium karbonat sebanyak 97%. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis porositas email gigi sebelum dan sesudah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratoris melibatkan subjek penelitian berupa 5 buah gigi premolar yang diaplikasikan asam fosfat 37% selama 60 detik dilanjutkan dengan pengamatan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) untuk menganalisis porositas email. Selanjutnya sampel diaplikasikan pasta cangkang telur ayam selama 30 menit dalam waktu 4 minggu berturut-turut dan diamati kembali menggunakan SEM dengan perbesaran 2000x untuk memperoleh hasil perbedaan porositas sebelum dan sesudah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam negeri. **Hasil:** Terdapat perbedaan porositas email sebelum dan sesudah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri, dengan terlihatnya perubahan permukaan email yang awalnya terlihat kasar dan porus menjadi terlihat lebih halus. Porositas terlihat menghilang dengan pola etsa tipe I (4 sampel) dan tipe II (1 sampel). **Simpulan:** Terdapat perbedaan porositas sebelum dan sesudah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri.

Kata kunci: Porositas email, pasta cangkang telur ayam negeri

Enamel porosity before and after the application of domestic chicken eggshell paste

ABSTRACT

Introduction: Tooth enamel is the hardest tissue of the human body, composed of millions of enamel prisms that contain hydroxyapatite. The presence of microbial acid products causes reduction of hydroxyapatite, characterised by the formation of porosity in tooth enamel. The porosity can be repaired using materials containing calcium and phosphate. One of natural-ingredients with high calcium is domestic chicken eggshells, which contain 97% of calcium carbonate. The purpose of this study was to analyse the porosity of tooth enamel before and after the application of domestic chicken eggshell paste. **Methods:** An experimental laboratory study involving research subjects in the form of 5 premolar teeth applied with 37% phosphoric acid for 60 seconds followed by observations using a scanning electron microscope (SEM) to analyse enamel porosity. The sample was then applied with chicken egg-shell paste for 30 minutes in 4 consecutive weeks. Afterwards, being observed again using the SEM with a magnification of 2000x to obtain the results of porosity differences before and after the application of domestic chicken eggshell paste. **Results:** There were differences in the porosity of enamel before and after the application of domestic chicken eggshell paste, with visible changes in the enamel surface which initially looked rough and porous became noticeably smoother. Porosity seemed to disappear with etching patterns of type I (4 samples) and type II (1 sample). **Conclusion:** There are differences in the enamel porosity before and after the application of domestic chicken eggshell paste.

Keywords: Enamel porosity, domestic chicken eggshell paste

PENDAHULUAN

Gigi berdasarkan strukturnya terdiri dari 4 jaringan yaitu email, dentin, sementum, dan pulpa. Tiga jaringan tersebut merupakan jaringan keras dan pulpa adalah jaringan lunak.¹ Email adalah bagian tubuh yang paling keras. Secara struktural email terdiri dari jutaan *enamel rod* atau prisma email, *rod sheath*, dan *cementing inter-rod substance*.² Jaringan ini memiliki komposisi kimiawi berupa 70% materi anorganik dan 30% materi organik³, sedangkan berdasarkan volumenya mengandung 90-92% hidroksiapatit.⁴

Sumber lain menyatakan bahwa email gigi manusia mengandung 96% bahan anorganik berupa hidroksiapatit, 4% bahan organik dan kandungan air yang bervariasi antara 1% hingga 6% per berat.⁵ Adanya produk asam mikrobial dapat menyebabkan hidroksiapatit berkurang yang ditandai dengan terbentuknya porositas pada email gigi. Porositas ini dapat diperbaiki menggunakan bahan yang mengandung kalsium dan fosfat.⁶ Hasil produk asam dari bakteri akan berpenetrasi lebih dalam ke prisma email sehingga mengalami destruksi.⁷ Hal tersebut dapat menyebabkan terbentuknya Porositas pada struktur prisma dimulai dari permukaan email.⁸

Demineralisasi adalah proses kehilangan mineral gigi seperti kalsium, fosfor dan fosfat yang dapat mengakibatkan kerusakan email. Mineral-mineral yang hilang tersebut dapat dikembalikan dengan proses remineralisasi.⁹ Remineralisasi merupakan pengembalian kembali mineral kompleks ke dalam tulang, email, dentin, atau sementum untuk menurunkan atau mengembalikan proses demineralisasi sebagai bagian dari pemeliharaan jaringan keras dan proses ini membutuhkan suplai ion kalsium dan fosfat.^{10,11}

Zaman modern ini banyak material alternatif yang bertujuan mencegah dan remineralisasi lesi awal email gigi.¹² Salah satu bahan alami yang mengandung tinggi kalsium adalah cangkang telur ayam.¹³ Cangkang telur ayam banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang, salah satunya adalah bidang kesehatan. Cangkang telur ayam terbukti dapat mempercepat durasi perdarahan dan terbukti dapat meningkatkan kepadatan mineral tulang pada hewan yang telah menopause yang mengalami osteoporosis.^{14,15} Cangkang telur ayam negeri diketahui mengandung 98,2% kalsium

karbonat 0,9% magnesium, and 0,9% fosfat.¹³ Kalsium karbonat diketahui memiliki fungsi sebagai penguat tulang dan gigi.¹⁶ Kandungan kalsium tersebut pada cangkang telur ayam negeri paling tinggi bila dibandingkan dengan cangkang telur ayam kampung (47,73%), cangkang telur bebek (28,26%), cangkang telur puyuh (33,23%), dan cangkang kerang darah (*Anadara granosa*) (53%).^{14,15,17} Cangkang telur ayam negeri diketahui memiliki kalsium yang lebih tinggi dibandingkan dengan *casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate* (CPP-ACP) yang telah banyak digunakan dalam bidang kedokteran gigi untuk remineralisasi gigi yang hanya mengandung kalsium sebanyak 18%.¹⁸ Untuk mengembalikan mineral dan hidroksiapatit yang hilang maka dibutuhkan suplai ion kalsium dan fosfat sehingga dapat terjadi remineralisasi.^{10,11}

Porositas email gigi yang disebabkan hidroksiapatit yang berkurang, dapat diperbaiki menggunakan bahan yang mengandung kalsium tinggi.⁶ Cangkang telur ayam negeri yang mempunyai kalsium tinggi ini diharapkan dapat memperbaiki Porositas email gigi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis porositas email gigi sebelum dan sesudah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri.

METODE

Jenis penelitian ini ekperimental laboratoris menggunakan 5 buah gigi premolar yang telah diekstraksi dan dipotong pada bagian *cemento-enamel junction* (CEJ) dengan ukuran maksimal 1 x 1 cm. Kriteria inklusi sampel adalah gigi bebas karies, tanpa restorasi, dan mempunyai akar yang utuh. Cangkang telur ayam yang digunakan adalah khusus cangkang telur ayam negeri. Kriteria eksklusi-penelitian adalah gigi desidui, gigi dengan fraktur mahkota, gigi dengan kalsifikasi, dan gigi yang pernah dirawat perawatan saluran akar. Penelitian ini dilakukan di LPPT UGM, BPTBA LIPI Gunung Kidul, Laboratorium Biokimia, Laboratorium Teknologi Farmasi, Laboratorium Program Studi Kedokteran Gigi, serta Laboratorium Jurusan Teknik Mesin Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Penelitian dilakukan dengan membersihkan cangkang telur ayam negeri sebanyak 1 kg dan dikeringkan dengan oven selama 2 jam pada

suhu 110°C kemudian dilakukan kalsinasi pada suhu 1000°C selama 5 jam, kemudian pembuatan hidroksiapatit. Proses pembuatan hidroksiapatit diawali pembuatan larutan kalsium dengan melarutkan 2,6110 gram bubuk cangkang telur ayam negeri ke dalam 10ml asam nitrat 65%, pH dibuat 10 dengan menambahkan ammonium hidroksida dan *buffer*.

Pembuatan larutan fosfat dengan melarutkan 3,9615 gram diamonium hidrogen fosfat ke dalam 10 ml aquabides, lalu ditambahkan lagi sampai larutan menjadi 100 ml. Larutan fosfat ini ditetaskan ke dalam larutan kalsium dengan dipanaskan pada suhu 40°C dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 300rpm. Pengadukan tetap dilanjutkan tanpa pemanasan selama 30 menit, dilanjutkan dengan proses presipitasi selama 24 jam. Presipitat kemudian disaring dengan kertas *whatman*, dicuci dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 110°C selama 5 jam kemudian dilakukan proses kalsinasi pada suhu 1000°C selama 5 jam.

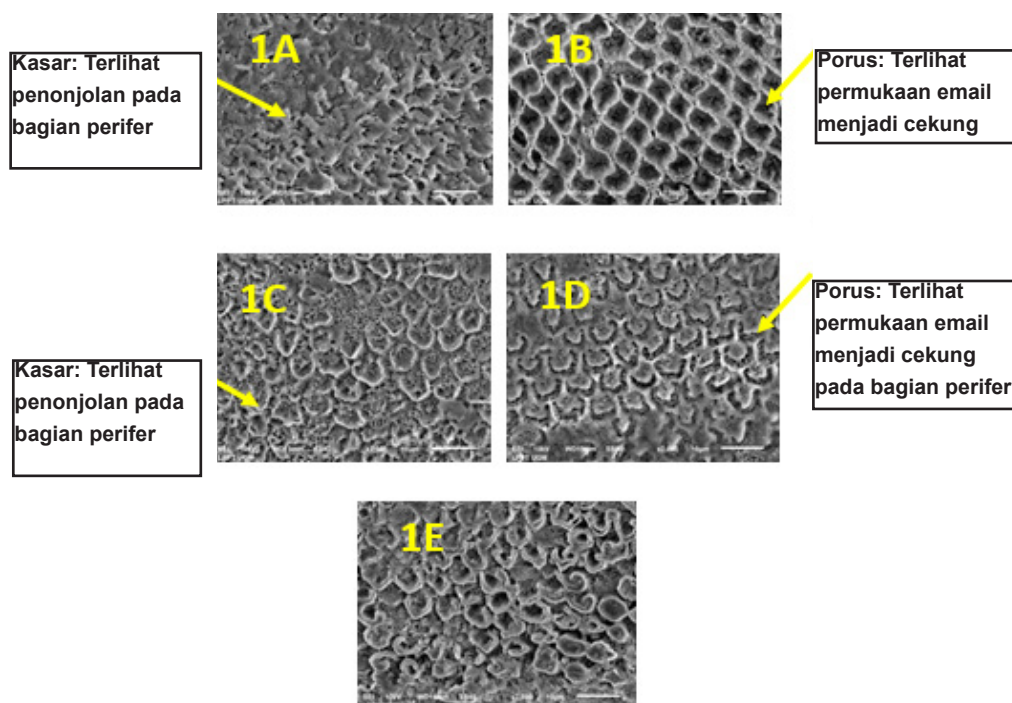
Pasta cangkang telur ayam dibuat dengan memanaskan aquades ditambah dengan 0,25 gram nipagin dan 0,1 gram *carboxymethyl cellulose sodium* (NaCMC), kemudian 0,5 gram bubuk cangkang telur ayam dicampurkan 1 gram gliserol sebagai *humectan*. Nipagin, NaCMC, dan gliserol

merupakan bahan dasar untuk pembuatan sediaan pasta. Selanjutnya alkohol dan 0,05 gram mentol sebagai bahan pemberi rasa dicampur hingga larut, kemudian ketiga campuran tersebut diaduk menjadi satu sehingga didapatkan cangkang telur ayam dalam bentuk sediaan pasta.

Asam fosfat 37% diaplikasikan menggunakan *microbrush* selama 60 detik di permukaan bukal gigi pada semua sampel untuk menghasilkan Porositas pada email, lalu dilakukan pengamatan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM) pada perbesaran 2000x untuk melihat gambaran hasil porositas yang terjadi pada email gigi akibat aplikasi etsa asam 37%. Pengaplikasian pasta cangkang telur ayam negeri di bagian bukal gigi pada permukaan yang di etsa menggunakan *microbrush* selama 30 menit yang dilakukan setiap 24 jam sekali setiap harinya selama 4 minggu, setelah itu dilakukan pengamatan kembali dengan SEM untuk melihat hasil perbedaan porositas sebelum dan sesudah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam negeri.

HASIL

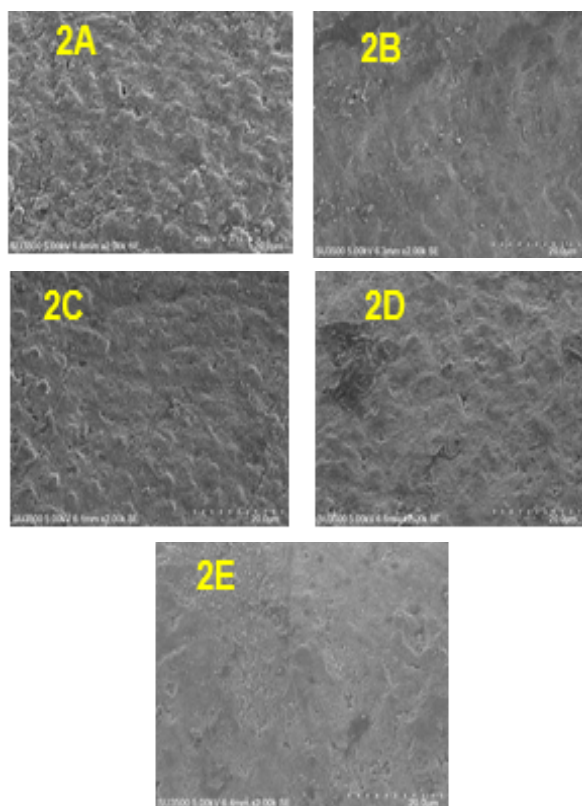
Hasil pengamatan SEM pada permukaan email gigi setelah pengolesan asam fosfat 37% adalah sebagai berikut:



Gambar 1. Gambaran SEM pola etsa pada permukaan email setelah aplikasi asam fosfat 37% (pembesaran 2000X); A. Honeycomb; B. Honeycomb; C. Honeycomb; D. Cobblestone; E. Honeycomb

Gambar 1 menunjukkan permukaan email gigi yang kasar dan berporus berupa permukaan email gigi yang cekung akibat larutnya kristal hidroksiapatit. sampel, didapatkan hasil gambaran pola etsa tipe 1 pada 4 sampel dan pola etsa tipe 2 pada 1 sampel. Gambaran disolusi interprismatik email yang berbentuk tipe 1 (*honeycomb*) ditunjukkan oleh keempat sampel (Gambar 1A,B,C, dan E). Hasil yang berbeda diperlihatkan pada gambar 1D, yaitu permukaan email menjadi kasar dan terdapat disolusi prismatik email pada bagian perifer. Hal ini menunjukkan pola tipe 2 yaitu *cobblestone*.

Hasil pengamatan SEM pada permukaan email gigi setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam selama 4 minggu terlihat pada gambar 2 A, B, C, D, dan E berikut ini:



Gambar 2. Gambaran SEM permukaan email setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri selama 4 minggu (pembesaran 2000x); A,B,C,D,E terdapat penurunan kekasaran & porositas menutup

Gambar 2 A, B, C, D, dan E menunjukkan hasil permukaan email setelah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam selama 4 minggu. gambar tersebut tidak memperlihatkan adanya prisma email yang terdisolusi. Terlihat pada permukaan email yang mulai menutup. Terlihat permukaan email mengalami perubahan yaitu

gambaran yang awalnya terlihat kasar (pasca pengaplikasian etsa asam) kemudian setelah aplikasi cangkang telur ayam negeri maka terlihat gambaran yang kekasarannya berkurang bila dibandingkan gambaran kekasaran awal. Gambar 2B menunjukkan gambaran email gigi yang kekasarannya berbeda yaitu lebih sedikit bila dibandingkan dengan gambaran yang lainnya, sedangkan gambar 2A memperlihatkan gambaran permukaan gigi yang kekasarannya paling banyak bila dibandingkan gambaran yang lainnya.

PEMBAHASAN

Penelitian ini mendapatkan hasil berupa permukaan email gigi yang terlihat kasar dan berporus (gambar 1A,B,C,D, dan E). Etsa asam bekerja dengan menghilangkan mineral-mineral dari jaringan keras gigi. Lapisan permukaan yang kasar setelah pengolesan etsa asam disebabkan oleh hilangnya mineral karena disolusi kristal hidroksiapatit pada gigi.¹⁹ Pengolesan etsa asam dapat menghasilkan mikroporositas pada permukaan email.²⁰ Hal ini sesuai dengan pernyataan Buonocore²¹ bahwa penggunaan asam fosfat 37% dapat menyebabkan disolusi dari material interprismatik email yang menyebabkan permukaan email menjadi kasar dan terjadi porositas dengan kedalaman yang beragam.

Pengolesan etsa asam menghasilkan permukaan email menjadi terdeminalisasi yang memiliki pola yang seragam dan dalam.²² Silverstone²³ menyatakan terdapat 5 tipe pola permukaan email gigi yang dihasilkan pasca pengolesan etsa asam sebagai berikut ini: Tipe I: disolusi pada inti prisma menghasilkan penampakan seperti *honey comb* yaitu gambaran seperti bentuk sarang lebah; Tipe II: disolusi preferential pada prisma perifer menghasilkan penampakan seperti *cobblestone* yaitu gambaran seperti batu bulat; Tipe III: percampuran antara tipe I dan tipe II; Tipe IV: email yang terlihat kasar seperti gambaran puzzle yang belum selesai, peta ataupun jaringan; Tipe V: terlihat gambaran permukaan datar dan halus.²³

Penelitian ini dilakukan setelah pengolesan asam fosfat 37% didapatkan gambaran pola etsa asam tipe I dan tipe II pada sampel yang diuji. Pola etsa tipe I terlihat pada gambar 2A,B,C, dan 2E yang menunjukkan pola *honeycomb*. Pola ini terbentuk karena prisma email yang terdiri

dari krisal apatit mengalami disolusi yang pada akhirnya meninggalkan penonjolan pada batas prisma.²⁴ Pola etsa tipe II terlihat pada gambar 2D. Gambaran *cobblestone* terbentuk karena disolusi preferential dari prisma email.²⁰ Tipe ini pun prisma relatif tidak terpengaruh.²⁵

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setelah pengaplikasian pasta cangkang telur ayam negeri selama 4 minggu pada permukaan email gigi maka permukaan email gigi tersebut tampak kekasarannya berkurang bila dibandingkan sebelumnya yaitu pada saat aplikasi etsa asam (Gambar 2A,B,C,D, dan E). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Feroz et al²⁶ yang menyatakan bahwa aplikasi *chicken eggshell powder* (CESP) menyebabkan penurunan kekasaran permukaan email gigi. Penggunaan CESP ini memiliki efek yang efektif untuk meremineralisasi permukaan email gigi.²⁶

Penelitian ini menemukan bahwa awalnya terdapat porositas pada permukaan email gigi, setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam maka porositas menjadi berkurang (gambar 2A,B,C,D, dan E). Berkurangnya porositas ini kemungkinan disebabkan karena terjadi remineralisasi. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mony et al¹⁵ yang berhasil membuktikan bahwa penggunaan cangkang telur ayam memiliki potensi untuk meremineralisasi gigi. Pada penelitian lain seperti penelitian yang dilakukan oleh Asmawati²⁷ menunjukkan bahwa aplikasi dari gel cangkang telur ayam menyebabkan peningkatan komponen anorganik seperti kalsium, fosfor, magnesium, *chlorine*, oksigen, dan aluminium pada email yang sebelumnya mengalami demineralisasi.²⁷

Hasil penelitian ini memperlihatkan porositas pada email berkurang setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri. Porositas email yang berkurang setelah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri menunjukkan potensi remineralisasi pada permukaan email tersebut. Remineralisasi adalah proses perbaikan alami struktur gigi.²⁸ Menurut Featherstone²⁹, konsep sederhana dari remineralisasi berupa kalsium dan fosfat berdifusi kembali ke dalam gigi, dibantu fluoride kemudian melakukan pembentukan kembali kristal yang telah ada. Komponen kalsium dan fosfat diperlukan dalam remineralisasi untuk menjaga kekuatan dan kesehatan gigi dimana hal tersebut merupakan kunci utama dari proses remineralisasi.²⁸

Penelitian Asmawati²⁷ tentang identifikasi komponen anorganik pada cangkang telur ayam menunjukkan efek pemberian gel dengan bahan cangkang telur ayam meningkatkan komponen anorganik seperti kalsium, fosfor, magnesium, klorin, oksigen, dan aluminium setelah dilakukan pengolesan gel cangkang telur ayam pada email yang sebelumnya mengalami demineralisasi. Secara teori, derajat saturasi email bergantung pada konsentrasi ion kalsium dan fosfat. Sedikit perubahan pada konsentrasi kalsium akan memiliki efek yang lebih besar daripada perubahan pada derajat konsentrasi fosfat. Hal ini pun sudah terkonfirmasi bahwa penggunaan kalsium dua puluh kali lebih potensial daripada fosfat dalam menghambat disolusi email.³⁰ Tingginya kadar kalsium dan fosfat menyebabkan presipitasi yang cepat dari mineral kalsium dan fosfat pada permukaan email. Hal tersebut dapat menyebabkan obturasi (pengisian) dari permukaan email yang awalnya porus kemudian menutup. Hal ini disebut dengan proses remineralisasi.³¹

Penelitian ini memiliki keterbatasan berupa terbatasnya jumlah sampel yang digunakan dan usia gigi, ketebalan email yang tidak terkontrol, dan pengumpulan sampel yang tidak berasal dari suatu daerah yang sama, sehingga masih diperlukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak dan lebih terkontrol.

SIMPULAN

Porositas email gigi sebelum dan sesudah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri. Hasil pemeriksaan SEM menunjukkan porositas yang berbeda sebelum dan sesudah aplikasi pasta cangkang telur ayam negeri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Heymann HO, Swift E Jr, Ritter AV. *Stodervant's art and science of operative dentistry*. 6th ed. St. Louis: Mosby-Elsevier; 2013. h. 3.
2. Zhou ZR, Yu HY, Zheng J, Qian LM, Yan Y. *Dental biotribology*. Berlin: Springer Science & Business Media; 2013. h. 43.
3. Brand RW, Isselhard DE. *Anatomy of orofacial structure: A comprehensive approach*. 8th ed. St. Louis: Mosby-Elsevier; 2017. h. 2-13.
4. Garg N, Garg A. *Textbook of operative dentistry*.

- 2nd ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers; 2013. h. 19-22.
5. Reyes-Gasga J, Martínez-Piñero EL, Brès EF. Crystallographic structure of human tooth enamel by electron microscopy and xray diffraction: hexagonal or monoclinic. *J Microsc*. 2012;248(1):102-9. DOI: [10.1111/j.1365-2818.2012.03653.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2012.03653.x)
6. Abou Neel EA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, et al. Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:4743-63. DOI: [10.2147/IJN.S107624](https://doi.org/10.2147/IJN.S107624)
7. Wang H, Xiao Z, Yang J, Lu D, Kishen A, Li Y, et al. Oriented and ordered biomimetic remineralization of the surface of demineralized dental enamel using HAP@ACP Nanoparticles Guided by Glycine. *Scientific Rep*. 2017;7:40701. DOI: [10.1038/srep40701](https://doi.org/10.1038/srep40701)
8. Banerjee A, Watson TF. Pickard's manual of operative dentistry. 9th ed. Oxford: Oxford University Press; 2011. h. 4.
9. Robinson DS, Bird DL. Essentials of dental assisting. 5th ed. St Louis: Saunders-Elsevier; 2012. h. 267.
10. Fehrenbach MJ. Mosby's dental dictionary. 4th ed. St Louis: Mosby-Elsevier; 2019. h. 696.
11. Yanagisawa T, Miake Y. High-resolution electron microscopy of enamel-crystal demineralization and remineralization in carious lesions. *J Electron Microsc* (Tokyo). 2003;52(6):605-13. DOI: [10.1093/jmicro/52.6.605](https://doi.org/10.1093/jmicro/52.6.605)
12. Kensche A, Potschke S, Hannig C, Richter G, Hoth-Hannig W, Hannig M. Influence of calcium phosphate and apatite containing products on enamel erosion. *Scientific World J*. 2016;2016:1-12. DOI: [10.1155/2016/7959273](https://doi.org/10.1155/2016/7959273)
13. Allam G, El-Geleel OA. Evaluating the mechanical properties, and fluoride release of glass-ionomer cement modified with chicken eggshell powder. *Dent J(Basel)*. 2018;6(3):40. DOI: [10.3390/dj6030040](https://doi.org/10.3390/dj6030040)
14. Majedi MA, Mahanani ES, Triswari D. Perbedaan efektivitas Penambahan Bubuk Cangkang Telur Ayam Ras dengan Ayam Kampung terhadap Durasi Perdarahan (In Vivo). *Insisiva Dent J*. 2013;2(1):73-9.
15. Mony B, Ebenezar AVR, Ghani MF, Narayanan A, Anand S, Mohan AG. Effect of chicken egg shell powder solution on early email carious lesions: An invitro preliminary study. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(3):ZC30-ZC32. DOI: [10.7860/JCDR/2015/11404.5656](https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/11404.5656)
16. Warsy, Chadijah S, Rustiah W. Optimalisasi kalsium karbonat dari cangkang telur untuk produksi pasta komposit. *Al-Kimia*. 2016;4(2):86-97.
17. Aziz MY, Putri TK, Aprilia FR, Ayuliasari Y, Hartini OAD, Putra MR. Eksplorasi kadar kalsium (Ca) dalam limbah cangkang kulit telur bebek dan burung puyuh menggunakan metode titrasi dan AAS. *Al-Kimiya*. 2018;5(2):74-7. DOI: [10.15575/ak.v5i2.3834](https://doi.org/10.15575/ak.v5i2.3834)
18. Hikmah N, Nugroho JJ, Natsir N, Rovani CA, Mooduto L. Enamel remineralization after extracoronary bleaching using nano-hydroxyapatite (nHA) From Synthesis Results of Blood Clam (*Anadara granosa*) Shells. *J Dentomaxillofac Sci*. 2019;4(1):28-31. DOI: [10.15562/jdmfs.v4i1.691](https://doi.org/10.15562/jdmfs.v4i1.691)
19. Zafar MS, Ahmed N. The effects of acid etching time on surface mechanical properties of dental hard tissues. *Dent Mater J*. 2015;34(3):315-20. DOI: [10.4012/dmj.2014-083](https://doi.org/10.4012/dmj.2014-083)
20. Parihar N, Pilonia M. SEM evaluation of effect of 37% phosphoric acid gel, 24% EDTA gel and 10% maleic acid gel on the enamel and dentin for 15 and 60 seconds: in-vitro study. *Int Dent J Stud Res*. 2012;1(2):29-41.
21. Buonocore MG. Caries prevention in pits and fissures sealed with an adhesive resin polymerized by ultraviolet light: A two year study of a single adhesive application. *J Am Dent Assoc*. 1971;82(5):1090-3. DOI: [10.14219/jada.archive.1971.0180](https://doi.org/10.14219/jada.archive.1971.0180)
22. Nanjannawar LG, Nanjannawar GS. Effects of self-etching primer and 37% phosphoric acid etching on enamel: A scanning electron microscopic study. *J Contemp Dent Pract*. 2012;3(3):280-4. DOI: [10.5005/jp-journals-10024-1137](https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1137)
23. Silverstone LM, Saxton CA, Dogon IL, Fejerskov O. Variation in the Pattern of Acid Etching of Human Dental Enamel Examined by Scanning Electron Microscopy. *Caries Res*. 1975;9:373-87. DOI: [10.1159/000260179](https://doi.org/10.1159/000260179)
24. Patcas R, Zinelis S, Eliades G, Eliades T. Surface and Interfacial Analysis of Sandblasted and Acid-etched Enamel for Bonding Orthodontic Adhesives. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*.

- 2015;147(4 Suppl):S64-75. DOI: [10.1016/j.ajodo.2015.01.014](https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2015.01.014)
25. Shinohara MS, de Oliveira MT, Di Hipolito V, Giannini M, de Goes MF. SEM analysis of the acid-etched enamel patterns promoted by acid monomers and phosphoric acids. *J Appl Oral Sci.* 2006;14(6):427-35. DOI: [10.1590/s1678-77572006000600008](https://doi.org/10.1590/s1678-77572006000600008)
26. Feroz S, Moeen F, Haq SN. Protective effect of chicken egg shell powder solution (CESP) on artificially induced dental erosion: An in vitro atomic force microscope study. *Int J Dent Sci Res.* 2017;5(3):49-55. DOI: [10.12691/ijdsr-5-3-2](https://doi.org/10.12691/ijdsr-5-3-2)
27. Asmawati. Identification of inorganic compounds in eggshell as dental remineralization material. *J Dentomaxillofac Sci.* 2017;2(3):168-71. DOI: [10.15562/jdmfs.v2i3.653](https://doi.org/10.15562/jdmfs.v2i3.653)
28. Hemagaran G, Neelakantan P. Remineralization of the tooth structure – The future of dentistry. *Int J Pharm Tech Res.* 2014;6(2):487-93.
29. Featherstone JD. Dental Caries: A Dynamic Disease Process. *Aust Dent J.* 2008;53(3):286-91. DOI: [10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x](https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x)
30. Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: A review of literature. *J Dent.* 2014;42 Suppl 1:S12-20. DOI: [10.1016/S0300-5712\(14\)50003-6](https://doi.org/10.1016/S0300-5712(14)50003-6)
31. Garcia-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc.* 2008;139 Suppl:25S-34S. DOI: [10.14219/jada.archive.2008.0352](https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0352)