

Uji daya antibakteri semen karbonat apatit terhadap *Streptococcus mutans*

Myrna Nurlatifah Zakaria¹, Astrin Meita Nurfauziah¹, Indah Puti Rahmayani Sabirin²,
Arief Cahyanto^{3*}

¹Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Indonesia

²Departemen Oral Biologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Indonesia

³Departemen Ilmu Teknologi dan Material, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran, Indonesia

*Korespondensi: arief.cahyanto@fkg.unpad.ac.id

Submisi: 30 September 2019; Penerimaan: 27 Oktober 2019; Publikasi Online: 31 Oktober 2019

DOI: [10.24198/pjdrs.v3i2.24767](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v3i2.24767)

ABSTRAK

Pendahuluan: Semen karbonat apatit merupakan bahan biokeramik yang dapat menstimulasi perbaikan jaringan termineralisasi (jaringan biologis yang mengandung banyak mineral pada matriksnya). Semen ini memiliki pH basa sehingga dapat bersifat antimikroba. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang sering ditemukan pada infeksi endodontik. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis daya antibakteri semen karbonat apatit khususnya terhadap *Streptococcus mutans*. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Subjek pada penelitian ini terdiri dari 8 subjek semen karbonat apatit dengan 2 rasio bubuk/cairan berbeda, yaitu 0,5 dan 0,8 serta semen kalsium hidroksida sebagai kontrol. Penelitian dilakukan dengan metode sumuran difusi agar Kirby Bauer yang menggunakan medium agar Mueller Hilton dengan menghitung diameter zona hambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada interval waktu 1, 3, dan 5 hari. Uji statistik menggunakan One-Way Anova. **Hasil:** Semen karbonat apatit memiliki daya antibakteri pada interval waktu 1, 3, dan 5 hari, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok semen karbonat apatit dengan rasio bubuk/cairan 0,5 dengan 0,8. **Simpulan:** Semen karbonat apatit memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, namun daya antibakteri kalsium hidroksida lebih besar dibandingkan semen karbonat apatit

Kata kunci: Daya antibakteri, daya hambat bakteri, semen karbonat apatit, semen kalsium hidroksida, *Streptococcus mutans*

Antimicrobial effect of carbonate apatite cement againsts Streptococcus mutans

ABSTRACT

Introduction: Carbonate apatite cement is a bioceramic material with the ability to stimulate mineralized tissue repair. The alkaline pH of this cement can play a role in its antimicrobial effect. *Streptococcus mutans* is commonly found in deep caries. The purpose of this research was to analyzed the antimicrobial effect of carbonate apatite cement in particular against *Streptococcus mutans*. **Methods:** The study was an experimental laboratory research. subjects consist of 8 carbonate apatite cement samples with 2 different liquid/powder ratio 0.5, 0.8 and calcium hydroxide cement as control. This research used Kirby Bauer diffusion method on Mueller Hilton agar and evaluation was done by observing the inhibition zone of *Streptococcus mutans* growth with intervals of 1, 3, and 5 days of observation. and statistically control by using One-Way Anova. **Results:** showed significant results were different ($p < 0.05$) between carbonate apatite cement group calcium hydroxide cement at intervals of 1, 3, and 5 days. While there was no significant difference between carbonate apatite cement with liquid/powder ratio 0.5 and 0.8. **Conclusion:** Carbonate apatite cement has an antimicrobial effect against *Streptococcus mutans*, however, the antimicrobial effect of calcium hydroxide cement was higher than carbonate apatite cement.

Keywords: Antimicrobial effect, bacteria inhibition zone, carbonate apatite cement, calcium hydroxide cement, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Karbonat apatit merupakan bahan biokeramik yang memiliki kemampuan menstimulasi perbaikan jaringan tulang dengan menstimulasi proliferasi sel, bersifat biokompatibel, meningkatkan bioaktivitas molekul pada jaringan dan menunjukkan solubilitas (tingkat kelarutan) yang tinggi dalam kondisi asam lemah di *Howships's lacuna* oleh osteoklas. Kelarutan semen karbonat apatit dipengaruhi oleh kandungan karbonat yang dapat meningkatkan bioaktivitas dan menstimulasi *remodeling* tulang. Semen karbonat apatit terdiri dari *dicalcium phosphate anhydrous* (DCPA) dan CaCO_3 yang dicampur dengan larutan Na_3PO_4 terdiri dari ion Ca^{2+} , CO_3^{2-} , dan PO_4^{3-} yang akan membentuk karbonat apatit yang mengendap, mengikat satu sama lain, kemudian mengeras. Pembentukan karbonat apatit yang mengendap akan menjadi stabil, tidak mudah berporus dan tidak mudah larut. Reaksi kimia semen karbonat apatit menghasilkan nilai pH basa (9-11) sehingga berpotensi sebagai bahan antimikroba, namun nilai pH mengalami penurunan seiring dengan peningkatan waktu.^{1-4,8}

Streptococcus mutans merupakan bakteri penyebab utama terjadinya karies. Bakteri *Streptococcus mutans* mengeluarkan produk berupa toksin dan mampu mensintesis polisakarida ekstraselular glukon, sehingga dapat memproduksi asam laktat yang merubah suasana lingkungan menjadi asam yang dapat menyebabkan demineralisasi. *Streptococcus mutans* pada karies yang dalam dapat membuka akses masuknya bakteri lain, produk bakteri serta toksin sehingga menginvasi jaringan pulpa, saluran akar, hingga periapikal.⁵ Secara umum medikamen yang digunakan untuk perawatan pulpa vital maupun non vital harus memiliki daya antimikroba untuk desinfeksi sehingga iritan dapat dihilangkan dan memungkinkan terjadinya perbaikan jaringan. Kalsium hidroksida $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ merupakan medikamen yang paling sering digunakan pada perawatan endodontik pulpa vital maupun non vital. Bahan ini memiliki kelarutan yang tinggi sehingga dapat menyebabkan terjadinya kebocoran yg menimbulkan infeksi sekunder.^{5,6,7}

Karbonat apatit merupakan bahan biokeramik yang baru dikembangkan dalam bidang kedokteran gigi. Beberapa penelitian menunjukkan bahan ini potensial sebagai bahan regenerasi pulpa, dan mampu menstimulasi pembentukan dentin

reparative pada pulpa tikus yang tereksponasi.⁸ Bahan ini juga memiliki sifat fisik maupun mekanis yang baik sebagai bahan *pulp capping*.^{8,9,10} Namun demikian sifat antimikroba karbonat apatit belum ditelaah lebih lanjut, terutama pada rasio dan interval waktu yang berbeda. Sifat antimikroba suatu medikamen dipengaruhi interval waktu kontak bahan dan konsistensi bahan yang digunakan. Perbandingan bubuk/cairan bahan medikamen atau bahan antimikroba dapat mempengaruhi nilai pH (9-12) yang berperan dalam daya antimikroba, Perbandingan bubuk/cairan ini juga akan mempengaruhi daya alir bahan pada saluran akar.^{2,9,10} Berdasarkan uraian tersebut, studi ini bertujuan untuk meneliti daya antibakteri semen karbonat apatit terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan menggunakan perbandingan bubuk dan cairan 0,5 dan 0,8 pada pengamatan 3 interval waktu berbeda, yaitu 1 hari, 3 hari, dan 5 hari.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental laboratorik dengan fokus penelitian untuk mengetahui daya antibakteri semen karbonat apatit terhadap *Streptococcus mutans* dengan kelompok kontrol kalsium hidroksida, dengan mengukur daya hambat bahan menggunakan metode difusi. Kelompok uji dibagi menjadi 3 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas 8 sampel. Kelompok 1: Semen karbonat apatit (w/p 0,5); Kelompok 2: Semen karbonat apatit (w/p 0,8); Kelompok 3: Semen kalsium hidroksida (w/p 0,8). Semen karbonat apatit yang digunakan merupakan semen yang terdiri dari 60% DCPA dan 40% Vaterite yang dicampur dengan larutan Na_3PO_4 0,2 mol/L dengan rasio bubuk/cairan 0,5 dan 0,8 sedangkan semen kalsium hidroksida menggunakan pelarut akuades rasio 0,8.

Bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh dari Laboratorium Farmasi ITB direidentifikasi sebelum digunakan, kemudian dilakukan peremajaan dan dibiakkan pada agar *Muller Hinton* (MHA) selama 24 jam, pada suhu 37°C. Kultur bakteri yang telah berumur 24 jam selanjutnya dibuat suspensi bakteri dan disetarakan dengan standar McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml), diukur dengan spektrofotometri pada tabung reaksi berisi NaCl 0,9% steril. Pembuatan medium perbenihan dilakukan dengan sumuran *Kirby Bauer*, menggunakan metode difusi.

Suspensi bakteri 20 μ L (0,5 McFarland) di tanam pada MHA, kemudian pada 1 lempeng agar dibuat 4 buah sumuran menggunakan perforator dengan diameter 4mm. Semen uji yang telah dimanipulasi sampai bentuk konsistensi pasta sesuai rasio kelompoknya. Manipulasi semen karbonat apatit dilakukan dengan menempatkan 0,2 gr bubuk (60% DCPA dan 40% Vaterite ke atas *glass lab* steril yang telah diusap dengan alkohol 70% kemudian dan meneteskan larutan Na_3PO_4 sebanyak 100 μ l untuk kelompok 1 rasio 0,5 dan 160 μ l untuk rasio 0,8. Bubuk dan cairan dimanipulasi dengan spatula semen kemudian ditempatkan pada lubang sumuran yang telah diberi label. Kelompok kalsium hidroksida digunakan 0,2 gr bubuk kalsium hidroksida dengan 160 μ l akuades dan dimanipulasi dengan cara yang sama dengan semen karbonat apatit. Lempeng agar dengan sumuran yang telah diisi bahan uji kemudian ditutup dan dibungkus, selanjutnya di inkubasi pada inkubator 37 °C.

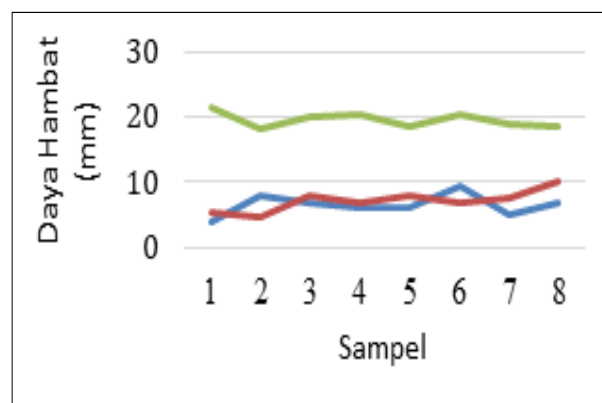
Daya hambat bahan uji dilihat dari pengukuran daerah zona bening disekeliling sumuran yang berisi medikamen yang menunjukkan adanya daya hambat bahan uji terhadap *Streptococcus mutans*. Zona bening diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter untuk melihat zona bakteri tidak tumbuh. Pengukuran zona hambat dilakukan pada hari ke-1, 3, dan 5. Data hasil pengukuran kemudian dianalisis menggunakan *One Way Anova* dan *Post hoc*. Perbedaan yang signifikan diantara kelompok-kelompok dinyatakan dengan uji $p < 0,05$. Nilai pH setiap kelompok uji diukur menggunakan pH meter dan di ukur pada waktu pre inkubasi (setelah bahan di manipulasi), pada hari ke-1,3 dan 5.

HASIL

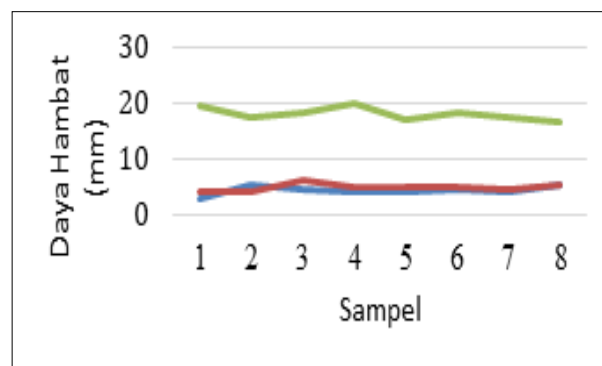
Hasil pengukuran diameter zona hambat semen karbonat apatit dengan rasio bubuk/cairan 0,5 dan 0,8 serta kelompok kontrol kalsium hidroksida terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada hari ke-1, 3, dan 5 terlihat pada Gambar 1. Semakin besar diameter daya hambat medium agar menunjukkan sifat antibakteri yang baik.

Kelompok semen karbonat apatit dengan rasio bubuk/cairan 0,5 dan 0,8 memiliki daya hambat bakteri yang relatif stabil untuk setiap sampelnya dihari ke-1. Nilai rata-rata daya hambat rasio 0,5 adalah 6,56 mm, sedangkan rasio 0,8 adalah 7,20 mm. Semen karbonat apatit rasio 0,8 memiliki

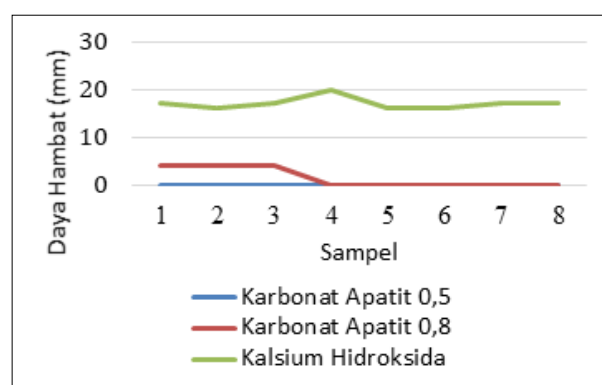
nilai daya hambat yang lebih tinggi, dibandingkan dengan semen karbonat apatit rasio 0,5 sedangkan kelompok kontrol kalsium hidroksida menghasilkan daya hambat bakteri yang lebih tinggi dibandingkan kedua kelompok yang lainnya dan relatif stabil pada setiap sampelnya dengan rata-rata diameter 19,51 mm (Gambar 1). Hal ini didukung oleh data hasil pemeriksaan pH seperti tertera pada Tabel 1, nilai pH kalsium hidroksida lebih tinggi dan stabil dibandingkan dengan nilai alkali pH semen karbonat apatit.



Grafik 1a.



Grafik 2b.



Grafik 3b.

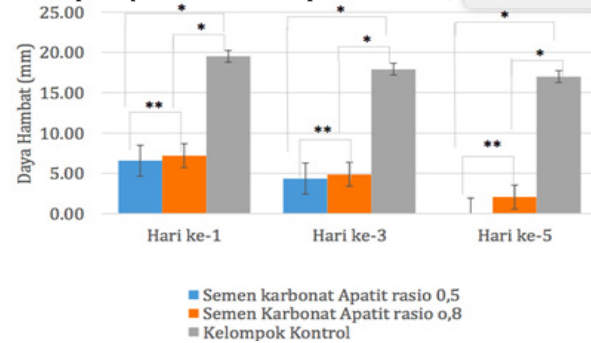
Gambar 1. Besar diameter zona hambat karbonat apatit terhadap *Streptococcus mutans*.

(a) pengamatan hari ke-1; (b) pengamatan hari ke-3; (c) pengamatan hari ke-5

Tabel 1. Nilai uji pH bahan semen karbonat apatit dan kalsium hidroksida

Zat Uji	Hasil Uji pH			
	pre inkubasi	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5
Karbonat Apatit (0,5)	11,5	11,19	10,67	10,24
Karbonat Apatit (0,8)	10,67	11,69	12,78	10,64
Kalsium Hidroksida (0,8)	12,27	13,37	13,9	12,75
Larutan Na ₃ PO ₄	12,26			

Gambar 2. Rerata diameter zona hambat karbonat apatit terhadap *Streptococcus mutans* pada hari ke-1, ke-3 dan ke-5



Pada pengamatan hari ke-3, nilai hambat bakteri antara karbonat apatit rasio 0,5 dan 0,8 memiliki pola yang serupa dengan pengamatan hari ke-1. Daya hambat pada setiap sampel semen karbonat apatit rasio 0,5 relatif stabil dengan rata-rata diameter daya hambat 4,35 mm. Hal ini serupa dengan kelompok karbonat apatit dengan rasio 0,8 dengan rerata diameter daya hambat 4,88 mm.

Kelompok kontrol kalsium hidroksida pada hari ke-3 tetap memiliki daya hambat yang tinggi

dan relatif stabil pada setiap sampelnya dengan rerata diameter 17,92 mm (Grafik 1a). Semen karbonat apatit dengan rasio bubuk/cairan 0,5 dan 0,8 yang mulai mengalami penurunan nilai diameter daya hambat pada hari ke-5 hingga mencapai nilai 0 (tidak ada daya hambat). Nilai rata-rata diameter daya hambat rasio 0,8 adalah 1,5 mm. Sedangkan kalsium hidroksida tetap menghasilkan diameter daya hambat yang tinggi pada hari ke-5 dengan nilai rata-rata 17 mm (Grafik 1a).

Tabel 2. Uji *Post hoc* dari masing-masing zona hambat

Dependent Variable	Zat uji (I)	Zat uji (J)	Mean Different (I-J)	Std.Error	Sig	95% Confidence Level	
						Lower Bound	Upper Bound
Zona hambat H1	LP 0,5 KA	LP 0,8 KA	-,6375	,7603	,411	-,2219	,944
		LP 0,8 KH	-12,9463*	,7603	,000	-14,527	-11,365
	LP 0,8 KA	LP 0,5 KA	-,6375	,7603	,411	-,944	2,219
		LP 0,8 KH	-12,3018*	,7603	,000	-13,890	-10,728
	LP 0,8 KH	LP 0,5 KA	12,9463*	,7603	,000	11,365	14,527
		LP 0,8 KA	12,3088*	,7603	,000	10,728	13,890
Zona hambat H3	LP 0,5 KA	LP 0,8 KA	-,5250	,4719	,278	-1,506	,456
		LP 0,8 KH	-13,5738*	,4719	,000	-14,555	-12,592
	LP 0,8 KA	LP 0,5 KA	,5250	,4719	,278	,456	1,506
		LP 0,8 KH	-13,0488*	,4719	,000	-14,030	-12,067
	LP 0,8 KH	LP 0,5 KA	13,5738*	,4719	,000	12,592	14,555
		LP 0,8 KA	13,0488*	,4719	,000	12,067	14,030

Tabel 3. Uji *Mann-Whitney* pada uji daya antibakteri hari ke-5

	Zat uji	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat H5	LP 0,5 KA	8	7,00	56,00
	LP 0,8 KA	8	10,00	80,00
	Total	16		

Zona hambat H5	
Mann-Whitney U	20,000
Wilcoxon W	56,000
Z	-1,861
Asymo. Sig. (2-tailed)	,063
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,234

Semen karbonat apatit rasio 0,5 dan 0,8 pada hari ke-1 menunjukkan daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan hari ke-3 dan hari ke-5. Semen karbonat apatit rasio 0,8 memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan rasio 0,5 pada hari ke-1 (Gambar 2). Uji *Post hoc* pada masing-masing perlakuan untuk hari ke-1 dan ke-3 menunjukkan nilai ($p < 0,05$ atau $p = 0,000$) sehingga hasil uji daya antibakteri semen karbonat apatit dengan rasio bubuk/cairan 0,5 dan 0,8 pada hari ke-1 dan ke-3 memiliki perbedaan yang signifikan antara rasio 0,5 dan 0,8 bila dibandingkan dengan kelompok kontrol kalsium hidroksida seperti terlihat pada Tabel 2.

Pengujian *Mann-Whitney* yang dilakukan pada hasil data hari ke-5 pada masing-masing perlakuan menunjukkan nilai ($p < 0,05$ atau $p = 0,000$) sehingga uji daya antibakteri semen karbonat apatit bubuk/cairan dengan rasio 0,5 dan 0,8 memiliki perbedaan signifikan antara rasio 0,5 dan 0,8 bila dibandingkan dengan kelompok kontrol (Tabel 3). Sedangkan uji statistik pada hasil daya hambat semen karbonat apatit rasio 0,5 dan 0,8 menghasilkan perbedaan yang tidak signifikan pada semua interval waktu yang diamati.

PEMBAHASAN

Daya hambat semen karbonat apatit maupun kalsium hidroksida terhadap *Streptococcus mutans* mengalami penurunan dari hari pertama sampai akhir hari pengamatan. Hal ini dapat dipengaruhi oleh konsistensi semen yang viskositasnya makin tinggi akibat reaksi pengerasan semen sehingga difusi bahan ke dalam agar semakin rendah. Salah satu faktor yang mempengaruhi hasil uji bakteri menggunakan metode difusi agar adalah kemampuan bahan uji atau zat aktif bahan uji untuk dapat berdifusi/berpenetrasi ke dalam agar, berbeda dengan pengujian pada media cair.

Bahan yang tidak dapat melalui agar meskipun memiliki sifat antibakteri yang tinggi pada media cair, mungkin mengalami penurunan efektivitas pada media padat. Hal ini juga mendasari lebih tingginya nilai daya hambat karbonat apatit dengan rasio 0,8 dibandingkan 0,5. Semen karbonat apatit dengan rasio 0,8 masih memiliki daya hambat sampai terakhir evaluasi, dibandingkan dengan rasio 0,5. Viskositas semen yang lebih rendah pada rasio 0,8 dan rasio lebih besar juga mempengaruhi waktu pengerasan bahan yang lebih lama.

Penurunan daya hambat semen karbonat apatit dapat berhubungan dengan presipitasi/pengendapan ion yang membentuk senyawa karbonat apatit.^{1,2} Saat bahan belum *setting* sempurna, bahan tersebut melepas lebih banyak ion hidroksil sehingga pH semen masih lebih tinggi. Besarnya zona hambat pada rasio 0,8 dibandingkan 0,5 juga dapat berkaitan dengan banyaknya larutan Na_3PO_4 yang digunakan karena larutan Na_3PO_4 bersifat basa (pH 12,3). Aliran dari material berjalan lebih lambat, sehingga kemungkinan disolusi material menjadi lebih lama untuk berpresipitasi.¹⁻⁴ Kelompok kontrol semen kalsium hidroksida mempunyai daya hambat antibakteri yang stabil dari hari ke-1, ke-3 dan ke-5 menunjukkan bahwa alkalinitas bahan ini masih mempengaruhi bakteri selama periode pengujian. Sifat alkali kalsium hidroksida merupakan hal yang berhubungan dengan daya antibakteri kalsium hidroksida. Sifat basa kalsium hidroksida terjadi melalui lepasnya Ca^{2+} dan OH^- sehingga pH menjadi alkali dan menciptakan lingkungan yang tidak sesuai untuk berkembangnya mikroorganisme, baik pada kalsium hidroksida sebagai medikamen saluran akar untuk desinfeksi maupun pada penggunaannya sebagai bahan *pulp capping*.^{11,12}

Nilai pH tinggi (>12) dapat mempengaruhi bakteri yang berkontak langsung dengan bahan, mampu membatasi tempat bakteri bermultiplikasi, menghancurkan sisa-sisa jaringan nekrotik, menginaktivasi lipopolisakarida (LPS), dan membantu memperbaiki jaringan periapikal.^{12,13,14} Kalsium hidroksida memiliki kemampuan untuk terus melepas ion hidroksil yang bertambah dari waktu ke waktu, yang juga dipengaruhi oleh bahan pelarut atau *vehicle* yang digunakan, sehingga efektifitas kalsium hidroksida bisa mencapai 2 minggu setelah aplikasi. Bahan ini juga sering digunakan sebagai medikamen dengan interval waktu yang lama.^{15,16,17}

Data penelitian ini menunjukkan bahwa efektifitas antibakteri semen karbonat apatit terjadi pada 3 hari pertama, sehingga penggunaan bahan sebagai bahan disinfeksi tidak disarankan untuk medikamen jangka panjang seperti halnya kalsium hidroksida. Semen karbonat apatit memiliki daya antibakteri yang rendah dibandingkan dengan kalsium hidroksida, adanya perbedaan ini dapat dipengaruhi oleh stabilitas nilai pH, *setting time* dan solubilitas semen kalsium hidroksida yang lebih tinggi dibandingkan dengan karbonat apatit. Data mengenai nilai pH pada penelitian ini menunjukkan

nilai pH kalsium hidroksida yang masih stabil sampai hari ke-5 pengamatan dengan nilai pH 12,75, sedangkan pH semen karbonat apatit rasio 0,5 maupun 0,8 menurun dari hari ke-1 ke-5 sampai nilai 10, 24 dan 10,64. Bentuk dan ukuran partikel bahan juga dapat mempengaruhi efektifitas bahan, semakin kecil partikel maka berpenetrasi nya dapat lebih dalam.¹¹

Penggunaan semen karbonat apatit akan lebih baik digunakan pada tempat yang sudah di desinfeksi dan eksponasi mekanis pada daerah bebas karies karena bahan ini lebih besar perannya dalam pembentukan jaringan termineralisasi. Bahan karbonat apatit memiliki waktu pengerasan dan kekuatan mekanis yang lebih baik dibandingkan kalsium hidroksida.⁹ Salah satu upaya untuk meningkatkan daya antibakteri semen karbonat apatit ini dapat ditambahkan dengan bahan-bahan lain untuk meningkatkan kelarutan bahan aktifnya, penambahan zat antimikroba, ataupun memperkecil ukuran partikelnya hingga ukuran nanometer.¹⁸

SIMPULAN

Semen karbonat apatit memiliki sifat antibakteri khususnya terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Daya antibakteri semen ini lebih tinggi pada rasio 0,8 dibandingkan 0,5 namun, daya antibakterinya menurun setelah hari ke-5 observasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Jenderal Achmad Yani, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani dan Laboratorium Terpadu Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran yang mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cahyanto A, Maruta M, Tsuru K, Matsuya S, Ishikawa K. Fabrication of bone cement that fully transforms forms to carbonate apatite. Dent Mat J 2015;34(3):394-401. DOI: [10.4012/dmj.2014-328](https://doi.org/10.4012/dmj.2014-328)
2. Zakaria MN, Cahyanto A, El-Ghannam A. Basic properties of novel bioactive cement based on silica-calcum phosphate composite and carbonate apatite. Key Eng Mater 2016;720:147-52.
3. Cahyanto A, Toita R, Tsuru K, Ishikawa K. Effect of particle size on carbonate apatite cement properties consisting of calcite (or vaterite) and dicalcium phosphate anhydrous. Key Eng Mater. 2014;631:128-33. DOI: [10.4028/www.scientific.net/KEM.631.128](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.631.128)
4. Cahyanto A, Maruta M, Tsuru K, Matsuya S, Ishikawa K. Basic properties of carbonate apatite cement consisting of vaterite and dicalcium phosphate anhydrous. Key Eng Mater 2013;529-530:192-6. DOI: [10.4028/www.scientific.net/KEM.529-530.192](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.529-530.192)
5. Siqueira JF, Rocas IN, Lopes HP. Treatment of endodontic infections. Germany: Quintessence Publishing; 2011. p.9-15, 97-121, 287-310.
6. Kim D KE. Antimicrobial effect of calcium hydroxide as an intracanal medicament in root canal treatment. JRDE 2014;39:241-52.
7. Zakaria MN, Pauziah NFN, Sabirin IP, Cahyanto A. Evaluation of carbonate apatite in inducing formation of reparative dentin in exposed dental pulp. Key Eng Mater 2017;758:250-4. DOI: [10.4028/www.scientific.net/KEM.758.250](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.758.250)
8. Mohammadi Z, Dummer PMH. Properties and applications of calcium hydroxide in endodontics and dental traumatology. Int Endod J 2011;44(8):697-730. DOI: [10.1111/j.1365-2591.2011.01886.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.01886.x)
9. Zakaria MN, Pauziah NFN, Sabirin IP, Cahyanto A. Evaluation of carbonate apatite in inducing formation of reparative dentin in exposed dental pulp. Key Eng Mater 2017;758:250-4.
10. Zakaria MN, Cahyanto A, El-Ghannam. Calcium release and physical properties of modified carbonate apatite cement as pulp capping agent in dental application. Biomater Res 2018 Dec 6;22:35. DOI: [10.1186/s40824-018-0146-6](https://doi.org/10.1186/s40824-018-0146-6).
11. Cahyanto A, Restunaesha M, Zakaria MN, Rezano A, El-Ghannam A. Compressive strength evaluation and phase analysis of pulp capping materials based on carbonate apatite-SCPC using different concentration of SCPC and calcium hydroxide. Key Eng Mater 2018;782:15-20. DOI: [10.4028/www.scientific.net/KEM.782.15](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.782.15)
12. Komabayashi T, D'souza RN, Dechow PC, Spangberg LSW. Particle size and shape of calcium hydroxide. J Endod 2009;35(2):284-7. DOI: [10.1016/j.joen.2008.11.017](https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.11.017).
13. Zayed MM, Hassan RE, Riad MI. Evaluation of the antibacterial efficacy of different

- bioactive lining and pulp capping agents. Tanta Den J 2015;12(2):132-9. DOI: [10.1016/j.tdj.2015.04.003](https://doi.org/10.1016/j.tdj.2015.04.003)
14. Zakaria MN. Saving the pulp and essential issues in pulp capping treatment. J Dentomaxillofac Sci 2016;1(2):73-6. DOI: [10.15562/jdmfs.v1i2.14](https://doi.org/10.15562/jdmfs.v1i2.14)
15. Shrestha A. Kishen A. Antibacterial nanoparticles in endodontics: A Review. J Endod 2016;42(10):1417-26. DOI: [10.1016/j.joen.2016.05.021](https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.05.021)
16. Grover C, Shetty N. Evaluation of calcium ion release and change in pH on combining calcium hydroxide with different vehicles. Cont Clin Dent 2014;5(4):434-9. DOI: [10.4103/0976-237X.142803](https://doi.org/10.4103/0976-237X.142803)
17. Misra P, Bains R, Loomba K, Singh A, Sharma VP, Murthy RC, Kumar R. Measurement of ph and calcium ions release from different calcium hydroxide pastes at different intervals of time: atomic spectrophotometric analysis. J Oral Biol Craniofas Res 2017;7(1):36-41. DOI: [10.1016/j.jobcr.2016.04.001](https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2016.04.001)
18. Athanassiadis B, Walsh LJ. Aspects of solvent chemistry for calcium hydroxide medicaments. Materials 2017;23;10. DOI: [10.3390/ma10101219](https://doi.org/10.3390/ma10101219)