

Laporan Penelitian

Perbedaan densitas email normal dengan email yang diremineralisasi secara in vitro menggunakan sediaan NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit: studi eksperimental

Elissa Paquita¹
Opik Taofik Hidayat^{2*}
Fajar Fatriadi²
Yurika Ambar Lita³

*Korespondensi:
opik.taofik@unpad.ac.id

Submisi: 06 Januari 2023
Revisi: 22 Juni 2023
Penerimaan: 27 Juni 2023;
Publikasi Online: 30 Juni 2023
DOI: [10.24198/pjdrs.v7i2.44293](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v7i2.44293)

¹Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

²Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

³Departemen Radiologi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

ABSTRAK

Pendahuluan: Penurunan densitas gigi terjadi ketika komponen mineral dalam gigi mengalami demineralisasi akibat asam organik yang menempel pada permukaan gigi. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya karies gigi yang sampai sekarang masih menjadi masalah kesehatan gigi di sebagian besar negara. Penelitian ini bertujuan menganalisis perbedaan densitas jaringan email normal dengan hasil tindakan remineralisasi secara *in vitro* menggunakan sediaan NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental murni menggunakan tiga puluh gigi premolar rahang atas yang dipotong di CEJ untuk menyisakan bagian mahkota. Sampel ditanam tegak lurus pada kubus akrilik berukuran 2x2 cm. Demineralisasi buatan dilakukan dengan cara merendam sampel di larutan asam sitrat 1% selama 24 jam. Sampel kemudian dibagi secara acak menjadi tiga kelompok dengan masing-masing berisi 10 sampel yang akan dioles menggunakan NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit dan dibiarkan selama 4 menit. Tindakan remineralisasi diulang selama 28 hari. Radiografi periapikal digunakan untuk melihat densitas mineral dengan melakukan foto radiografi sampel sebelum demineralisasi, setelah demineralisasi, dan setelah remineralisasi. Hasil foto akan dianalisis densitasnya menggunakan *software ImageJ*. **Hasil:** Nilai rerata densitas email setelah remineralisasi adalah sebesar 10,955%, 12,369%, dan 11,297% untuk bahan NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit secara berurutan. Analisis data dengan uji *one-way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p=0,043$). **Simpulan:** Aplikasi topikal NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit dapat meningkatkan densitas email yang terdemineralisasi melalui proses remineralisasi, dan yang paling baik diantaranya adalah CPP-ACP.

KATA KUNCI: remineralisasi, densitas email, NaF, CPP-ACP, karbonat apatit.

The difference in density between normal enamel and enamel after in-vitro remineralization using readymade NaF, CPP-ACP, and apatite carbonate: experimental study

ABSTRACT

Introduction: Decrease in tooth density occurs when the mineral components in the teeth experience demineralization due to organic acids that adhere onto the tooth surface. This can lead to dental caries which is still a dental health problem in most countries. This study aims to determine the difference in density between normal enamel and enamel after in-vitro remineralization using readymade NaF, CPP-ACP, and apatite carbonate. **Methods:** The method of this study was pure experimental using thirty maxillary premolars which were cut at the CEJ to leave part of the crown. Samples were planted perpendicularly on 2x2 acrylic cubes. Artificial demineralization was done by immersing samples in 1% citric acid solution for 24 hours. They were then divided randomly into three groups that consists 10 samples each which would be smeared with NaF, CPP-ACP and carbonate apatite and left for 4 minutes. The remineralization action was repeated for 28 days. Periapical radiography was used to see mineral density by performing radiographic photographs of samples before demineralization, after demineralization, and after remineralization. The results will be analyzed for density using *ImageJ* software. **Results:** The average values of enamel density after remineralization were respectively 10.955%, 12.369% and 11.297% for NaF, CPP-ACP and carbonate apatite. Data analysis using *one-way ANOVA* test showed a significant difference ($p=0.043$). **Conclusion:** Topical application of NaF, CPP-ACP and carbonate apatite can increase the density of demineralized enamel through remineralization process, with the best being CPP-ACP.

KEY WORDS: remineralization, enamel density, NaF, CPP-ACP, carbonate apatite.

PENDAHULUAN

Gigi terdiri dari empat jaringan yaitu email, dentin, sementum, dan pulpa. Email merupakan jaringan paling keras pada tubuh,¹ karena kandungan mineralnya yang tinggi yaitu 95% kalsium hidroksiapatit, serta 5% air dan matriks email.^{1,2} Sifat mekanik gigi yang berperan sebagai pelindung mahkota anatomis adalah densitas mineral.^{3,4} Menurut Kamus Kedokteran Dorland tahun 2012, densitas merupakan kualitas kepadatan dari suatu benda.⁵ Berdasarkan definisi tersebut, maka densitas mineral gigi dapat diartikan sebagai kualitas kepadatan kandungan mineral pada jaringan gigi. Kualitas kepadatan mineral tersebut dapat berubah jika terjadi proses mineralisasi yang terjadi pada gigi, yaitu proses remineralisasi dan demineralisasi.

Demineralisasi lokal dan hilangnya struktur gigi merupakan karakteristik adanya aktivitas karies pada gigi.⁶ Karies gigi terjadi ketika komponen mineral dalam gigi yang sebagian besar terdiri dari kalsium dan fosfat, mengalami demineralisasi akibat asam organik yang dihasilkan oleh bakteri pada biofilm yang menempel pada permukaan gigi.⁷ Jika berada dalam ekosistem biofilm untuk waktu yang lama, asam organik tersebut dapat menurunkan pH biofilm hingga di bawah tingkat kritis (5,5 untuk email dan 6,2 untuk dentin).⁶ Hilangnya mineral dari dalam gigi akan menyebabkan densitas gigi atau kualitas kepadatan kandungan mineral pada jaringan gigi menjadi menurun. Densitas mineral gigi rendah dapat menyebabkan berkurangnya lapisan pelindung gigi serta hilangnya kemampuan gigi untuk menahan gaya mekanik selama fungsi gigi normal.³

Karies gigi merupakan salah satu masalah kesehatan gigi yang terus terjadi di sebagian besar Negara.⁷ Berdasarkan *The Global Burden of Disease Study*, karies gigi merupakan penyakit yang dialami hampir dari setengah populasi penduduk dunia (3,58 milyar jiwa). Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018 menyatakan bahwa proporsi terbesar masalah gigi di Indonesia adalah gigi rusak, berlubang, ataupun sakit dengan persentase sebesar 45,3%. Karies gigi mempunyai dampak negatif pada kehidupan sehari-hari seperti menurunnya kesehatan secara umum, menurunnya tingkat kepercayaan diri, dan terganggunya performa dan kehadiran di sekolah atau tempat kerja.⁸

Pendekatan perawatan terapeutik untuk karies dapat dibagi menjadi 3 fase berdasarkan tingkat keterlibatan lesi. Pendekatan perawatan terapeutik untuk lesi awal dapat dilakukan dengan teknik remineralisasi.⁷ Remineralisasi adalah pemberian ion kalsium dan fosfat yang bersumber dari luar gigi untuk mengembalikan mineral yang hilang pada gigi yang mengalami demineralisasi, dengan tujuan untuk menghentikan perjalanan lesi menjadi bentuk kavitas.^{7,9} Di pasaran, terdapat banyak bahan remineralisasi yang dapat digunakan dengan berbagai variasi mekanisme kerja, dari bahan yang sudah sering digunakan sampai yang baru dikembangkan.^{7,10-12} Berbagai bahan remineralisasi telah diteliti melalui uji klinis atau studi *in vitro*, termasuk sodium fluoride (NaF) dan *casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate* (CPP-ACP). Sodium fluoride merupakan salah satu bahan remineralisasi berbasis fluoride yang menghambat disolusi mineral gigi dengan menyerap ke dalam permukaan gigi, menghasilkan lapisan fluoroapatit yang jauh lebih tahan terhadap serangan asam, serta menghambat metabolisme bakteri dengan cara menghambat aktivitas enzim esensial.¹⁰ Fluor merupakan standar emas dalam manajemen karies yang efektif dalam meningkatkan remineralisasi dan menjaga kesehatan gigi dan mulut.^{9,13,14} Namun menurut penelitian yang dilakukan oleh Shen *et al.*,¹³ ditemukan bahwa kemampuan NaF dalam meningkatkan remineralisasi terbatas oleh keberadaan ion kalsium dan fosfat.

CPP-ACP merupakan salah satu bahan remineralisasi berbasis kalsium yang mempunyai kemampuan untuk mengikat dan menstabilkan kalsium dan fosfat dalam larutan.⁷ Mekanisme kerjanya adalah dengan menyerap ke dalam biofilm dan ke permukaan gigi sehingga terjadi *buffer* pada aktivitas ion bebas kalsium dan fosfat untuk menekan terjadinya demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi.^{2,7,11} CPP-ACP merupakan bahan remineralisasi non-fluorida yang paling sering dipelajari, namun terdapat banyak perbedaan hasil dari penelitian lain yang telah dilakukan sebelumnya.¹⁴ Pada penelitian yang dilakukan oleh Wierichs *et al.*,¹³ dilakukan uji eksperimental menggunakan bahan remineralisasi NaF, NaF plus TCP, NaF plus CPP-ACP, dan SDF Varnish untuk membandingkan perbedaan densitas mineral pada jaringan dentin setelah remineralisasi. Pada penelitian tersebut, ditemukan bahwa penggunaan CPP-ACP sebagai bahan remineralisasi mempunyai peningkatan mineral yang lebih tinggi dibandingkan dengan NaF.¹¹ Hasil ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Guclu *et al.*,¹⁵ yang melakukan perbandingan antara CPP-ACP dengan varnish fluoride untuk pengobatan lesi awal karies. Pernyataan ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Huang *et al.*,¹⁶ dan Sitthisetthapong *et al.*,¹⁷ yang mengatakan bahwa tidak ada perbedaan signifikan dalam penggunaan CPP-ACP.

Uji eksperimental menggunakan bahan remineralisasi karbonat apatit masih jarang dilakukan. Hal ini dikarenakan karbonat apatit merupakan bahan biokeramik yang baru dikembangkan dalam bidang kedokteran gigi. Bahan ini bersifat biokompatibel dan memiliki kemampuan untuk menstimulasi perbaikan jaringan tulang dengan menstimulasi proliferasi sel, berpotensi sebagai bahan regenerasi pulpa, dan memiliki sifat fisik maupun mekanis yang baik sebagai bahan *pulp capping*.¹² Menurut penelitian yang ditulis oleh Kim *et al.*,¹⁸ nano karbonat apatit dengan konsentrasi 10% dapat secara signifikan mempertahankan warna awal serta melindungi struktur email yang rusak setelah prosedur *bleaching*.

Penelitian yang dilakukan oleh Zhi *et al.*,¹⁰ pengukuran densitas gigi dilakukan dengan menggunakan *micro-CT*. Zhi mengatakan bahwa penelitian terkini lebih sering menggunakan *micro-CT* untuk penentuan densitas mineral pada gigi.¹⁰ Namun, penggunaan *micro-CT* hanya terbatas pada penelitian praklinik dengan harga penggunaan yang relatif mahal.^{19,20} Berbeda dengan radiografi periapikal yang relatif lebih murah dan lebih aplikatif secara klinis dalam mengevaluasi kondisi lesi pada gigi.²¹ Radiografi panoramik juga merupakan teknik radiografi ekstraoral yang umum digunakan secara klinis, namun pada hasil radiografi panoramik sering terjadi distorsi geometris dan tidak mampu menampilkan detail anatomi seperti pada radiografi intraoral (periapikal).²² Belum ada penelitian yang menggunakan bahan remineralisasi NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit secara bersamaan. Penelitian ini bertujuan menganalisis perbedaan densitas jaringan email normal dengan hasil tindakan remineralisasi secara *in vitro* menggunakan sediaan NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit.

METODE

Populasi penelitian adalah 30 sampel gigi premolar rahang atas yang dikumpulkan dari puskesmas dan rumah sakit. Kriteria inklusi untuk populasi penelitian ini adalah gigi premolar rahang atas permanen yang telah diekstraksi dan tidak mempunyai kelainan morfologi dan anatomi. Kriteria eksklusinya adalah gigi premolar rahang atas permanen yang memiliki karies, atrisi, abrasi, abfraksi, dan/atau erosi, terdapat tambalan, dan mengalami fraktur. Teknik pengambilan sampel adalah purposive sampling. Penentuan jumlah sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federer.

Sebanyak 37 sampel yang dikumpulkan dari puskesmas dan rumah sakit, lima diantaranya terdapat fraktur pada bagian mahkotanya sehingga dieliminasi dari penelitian ini. Sisa sampel kemudian dikerucutkan menjadi 30 dengan memilih sampel dengan ukuran mahkota yang tidak jauh berbeda. Tidak ada kelompok kontrol yang digunakan dalam penelitian ini, baik kontrol normal maupun kontrol negatif. Alat ukur yang digunakan pada penelitian ini adalah radiografi periapikal (EzRay, VATECH, Korea) dengan sensor (EzSensor Classic ukuran 1,5, VATECH, Korea). Hasil foto radiografi kemudian dianalisis menggunakan *software* (Fiji untuk Mac OS, ImageJ) untuk mendapatkan data densitas setiap sampel. Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2022 sampai November 2022 di Laboratorium

Tiga puluh gigi premolar rahang atas didesinfeksi dengan cara merendam sampel pada larutan NaOCl 2,5% selama 15 menit dengan perbandingan larutan dan air 1:10. Sampel kemudian dibersihkan dari kalkulus dan debris secara manual menggunakan *scaler*. Setelah semua sampel selesai dibersihkan, permukaan mahkota digosok dengan amplas halus untuk memperlihatkan bagian email bersih.¹⁰ Setelah itu, sampel akan dipotong pada CEJ menggunakan *carborundum disc* untuk menyisakan bagian mahkota.²³ Masing – masing sampel kemudian ditanam pada cetakan akrilik berukuran 2cm x 2cm x 2cm. Adonan akrilik dibuat dengan mencampur serbuk akrilik dengan cairannya dan diaduk merata. Selanjutnya, adonan resin akrilik dimasukkan ke dalam cetakan akrilik sampai penuh, kemudian sampel ditanam bagian apikalnya ke dalam cetakan secara perlahan.²⁴ Sampel ditempatkan pada bagian yang lebih ke kiri dari cetakan dan pada bagian kanannya akan ditempatkan bola baja berdiameter 5 mm sebagai acuan pengukuran densitas.²⁵ Setelah resin akrilik kering, cetakan dilepas.²⁴ Hasil sampel yang telah ditanam pada cetakan akrilik, tampak pada Gambar 1. Setiap sampel diberi penomoran satu hingga tiga puluh menggunakan spidol di sisi palatal pada cetakan akrilik. Sampel kemudian direndam dalam NaCl fisiologis sampai waktu perlakuan yang berikutnya.

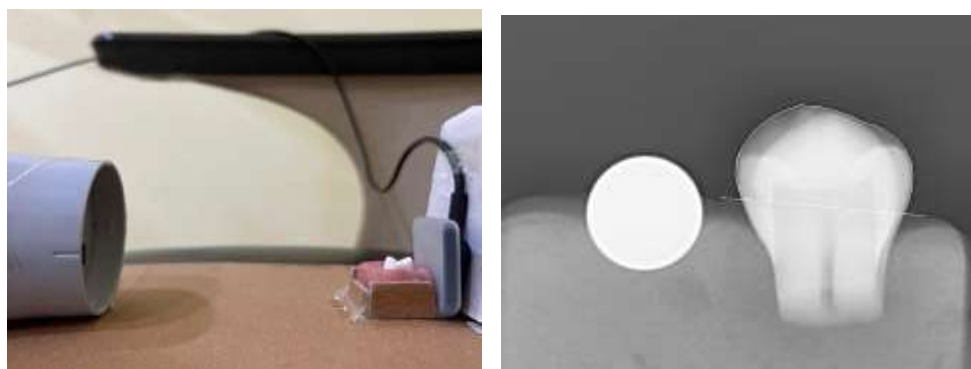
Penelitian Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran untuk melakukan tindakan demineralisasi serta remineralisasi dan di Ruangan Praktikum Radiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran untuk melakukan pengukuran densitas. Data tersebut kemudian dianalisis menggunakan *software* (IBM SPSS versi 26) untuk diuji secara statistik. Uji statistik yang digunakan adalah *one-way ANOVA* dan *post-hoc* dengan metode Tukey. Pada penelitian ini, tingkat signifikansi statistik ditetapkan pada 0,05.



Gambar 1. Sampel ditanam pada cetakan akrilik

Setelah semua sampel selesai ditanam pada cetakan akrilik, kemudian dilakukan pengukuran densitas pra-tindakan dengan tujuan untuk melihat densitas mineral awal dari sampel gigi. Hasil densitas pra-tindakan akan digunakan sebagai kelompok kontrol. Densitas mineral merupakan kualitas kepadatan mineral dari sampel yang dapat diukur dengan radiografi periapikal. Hasil gambaran yang didapatkan dari radiografi periapikal merupakan gambaran 2 dimensi yang kemudian diolah menggunakan *software* khusus (Fiji untuk Mac OS, ImageJ) untuk mendapatkan nilai densitas, disebut juga sebagai *optical density*.²⁶

Sebelum pengukuran, sampel dibilas menggunakan *aquades* dan dikeringkan dengan semprotan udara ringan. Pengukuran densitas dilakukan menggunakan radiografi periapikal dengan proyeksi radiografi paralel. Pengaturan radiografi yang digunakan adalah radiografi periapikal gigi dewasa akar jamak, 60 kV, 7mA selama 0,13 detik. Akrilik yang telah berisi sampel ditempatkan di bagian depan sensor dengan jarak 1 cm dari sampel ke sensor. Garis tengah akrilik harus tepat berada pada garis tengah sensor untuk meyakinkan hasil gambaran sampel selalu di tempat yang sama. Kepala tabung sinar-X diarahkan tegak lurus sumbu yang dibuat oleh sensor dan sampel dengan jarak dari kepala tabung ke sampel adalah 10 cm (gambar 2a). Hasil foto radiografi kemudian dimasukkan ke dalam *software* (Fiji untuk Mac OS, ImageJ) untuk dihitung densitasnya. Skala yang digunakan adalah 1,09 x 1,5 inci. Pilih menu *analyze* kemudian *set measurement* dan pastikan bagian *integrated density* dan *mean gray value* sudah tercentang. *Mean gray value* menunjukkan rerata *gray value* dari bagian sampel yang dipilih. Sedangkan *integrated density* menunjukkan jumlah banyaknya pixel dari bagian yang dipilih. Hasil ini sama dengan produk dari area dan *mean gray value*. Analisis densitas dilakukan dengan cara memilih email yang berada di bagian atas akrilik dengan menggunakan *polygon tool* (gambar 2b). Untuk mendapatkan densitas bagian yang sudah terpilih, klik *analyze* kemudian *measure*. Hasil gambaran yang akan ditunjukkan merupakan 8-bit yang memiliki 256 tingkatan *gray value*. Semakin tinggi hasil *gray value*, maka semakin tinggi pula hasil densitas yang akan didapatkan.



Gambar 2. (a) Susunan sampel pada foto radiografi periapikal (b) Contoh pemilihan bagian email dengan menggunakan *polygon tool*

Setelah pengukuran densitas pra-tindakan, sampel akan diberi perlakuan demineralisasi buatan. Tindakan ini dilakukan untuk mensimulasikan lesi demineralisasi dan menyediakan ruang bagi mineral masuk pada saat tindakan remineralisasi. Proses demineralisasi dilakukan menggunakan larutan asam sitrat 1% dengan pH 2,5 selama 24 jam.²⁷ Pembuatan larutan demineralisasi dilakukan dengan menimbang bubuk asam sitrat sebanyak 12 gr menggunakan timbangan analitik. Setelah itu, bubuk dilarutkan menggunakan *aquades* 1,2 L di *beaker glass* dan diaduk dengan batang pengaduk. Pengukuran pH dari larutan menggunakan pH meter analitik dilakukan untuk memastikan larutan mempunyai pH 2,5. Apabila larutan terlalu asam, maka dibasakan dengan menggunakan larutan NaOH 5%. Larutan asam sitrat 1% kemudian dituang dalam wadah kaca (gambar 3).



Gambar 3. Demineralisasi dengan larutan asam sitrat 1%

Setelah demineralisasi, sampel dibilas dengan *aquades* dan dikeringkan dengan semprotan udara ringan. Sampel diukur kembali menggunakan radiografi periapikal dengan metode yang sama seperti sebelumnya untuk melihat densitas mineral setelah perlakuan demineralisasi buatan. Hasil densitas setelah demineralisasi dicatat.

Tindakan remineralisasi dilakukan dengan menggunakan tiga bahan yang berbeda yaitu NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit. Remineralisasi adalah pemberian ion kalsium dan fosfat yang bersumber dari luar gigi untuk mengembalikan mineral yang hilang pada gigi yang mengalami demineralisasi. Sebelum dilakukan tindakan remineralisasi, sampel dibagi menjadi tiga kelompok secara acak menggunakan *website* randomisasi angka dengan masing – masing kelompok berisi sepuluh sampel. Kelompok pertama merupakan sampel yang akan dioles menggunakan larutan NaF 2%.

Kelompok kedua merupakan sampel yang akan dioles menggunakan krim CPP-ACP 10%. Kelompok ketiga merupakan sampel yang akan dioles menggunakan suspensi karbonat apatit 10%. Hasil pengacakan dicatat untuk memastikan kelompok sampel selalu terdiri dari gigi yang sama. Larutan NaF 2% yang digunakan pada penelitian ini dibuat dari bubuk NaF yang dilarutkan dan mengandung 20,000 ppm. Bahan remineralisasi CPP-ACP 10% GC (*Tooth Mousse*). Suspensi karbonat apatit 10% pada penelitian ini disintesis mandiri dengan mencampurkan bubuk dan cairan. Komposisi dari bubuk yang digunakan adalah kalsium oksida, nano DCPA, nano hidroksiapatit, dan vaterit (campuran kalsium hidroksida, metanol, dan akuabides). Komposisi cairan yang digunakan adalah disodium fosfat, NaCMC, dan *aquades*.

Remineralisasi dilakukan dengan cara mengoleskan bahan ke seluruh permukaan sampel (oklusal, bukal, palatal, mesial, dan distal) menggunakan *microbrush* (gambar 4a). Sampel yang telah dioleskan bahan remineralisasi akan dibiarkan selama 4 menit sebelum direndam pada saliva buatan (Afnor) dan dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 37° (gambar 4b). Setelah 24 jam, sampel dibilas menggunakan *aquades* dan bahan remineralisasi diaplikasikan ulang sesuai kelompoknya. Prosedur remineralisasi email diulang selama 28 hari.

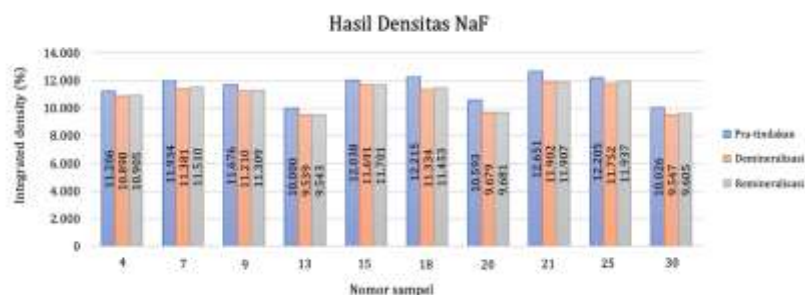


Gambar 4. (a) Pengolesan bahan remineralisasi
(b) Penempatan sampel pada inkubator

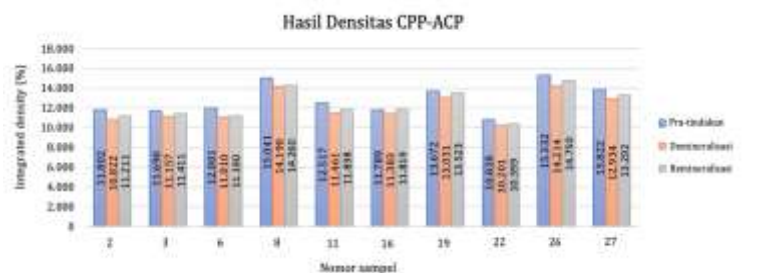
Setelah 28 hari, sampel dibilas menggunakan aquades kemudian dikeringkan dengan semprotan udara ringan. Sampel diukur kembali menggunakan radiografi periapikal dengan metode yang sama seperti sebelumnya untuk melihat densitas mineral setelah pemberian remineralisasi. Hasil densitas setelah remineralisasi dicatat. Semua data densitas yang didapatkan dimulai dari densitas pra-tindakan, setelah demineralisasi, dan setelah remineralisasi akan diuji secara statistik dengan menggunakan uji *one-way* ANOVA dan uji lanjutan Tukey pada *software* (IBM SPSS versi 26).

HASIL

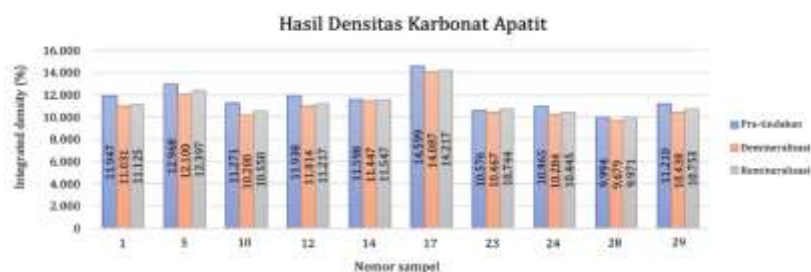
Data yang didapatkan dari 30 sampel gigi premolar rahang atas adalah data densitas pra-tindakan, sesudah demineralisasi, dan sesudah remineralisasi (Gambar 5, 6 dan 7).



Gambar 5. Hasil densitas dengan bahan remineralisasi NaF



Gambar 6. Hasil densitas dengan bahan remineralisasi CPP-ACP



Gambar 7. Hasil densitas dengan bahan remineralisasi karbonat apatit

Tabel 1. Uji normalitas dan *paired t-test* (IntDen)

Waktu tindakan	Jenis Tindakan	Uji Normalitas		<i>Paired T-test</i>	
		N	Nilai <i>p</i>	Mean	Nilai <i>p</i>
a Sebelum dan sesudah demineralisasi	Pra-tindakan	30	0,037	0,667367	0,001
	Demineralisasi	30	0,016		
b Sesudah remineralisasi NaF	Demineralisasi	10	0,029	-,061800	0,017
	Remineralisasi	10	0,024		
c Sesudah remineralisasi CPP-ACP	Demineralisasi	10	0,162	-,329000	0,001
	Remineralisasi	10	0,333		
d Sesudah remineralisasi karbonat apatit	Demineralisasi	10	0,059	-,221900	0,001
	Remineralisasi	10	0,044		

Tabel 1 kolom a menunjukkan hasil uji statistik densitas sebelum dan sesudah demineralisasi. Hasil uji normalitas didapatkan normal dengan $p > 0,05$. Hasil analisis *paired t-test* menunjukkan bahwa tindakan demineralisasi yang dilakukan signifikan ($p = 0,001$). Tabel 1 kolom b, c, dan d menunjukkan hasil uji statistik densitas masing – masing bahan setelah remineralisasi. Uji normalitas dilakukan sebagai syarat untuk melakukan analisis *paired t-test*. Hasil uji normalitas untuk semua bahan didapatkan normal dengan $p > 0,05$ dan analisis *paired t-test* menunjukkan bahwa tindakan remineralisasi yang dilakukan signifikan.

Tabel 2. Tabel deskriptif densitas bahan remineralisasi berdasarkan *mean gray value* dan *integrated density* (InDent)

Bahan remineralisasi	<i>Mean gray value</i>			<i>Integrated density</i>		
	<i>Mean</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>	<i>Mean</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>
NaF	202,37960	197,608	206,085	10,95510	9,543	11,937
CPP-ACP	199,23490	192,587	206,663	12,36930	10,399	14,750
Karbonat apatit	202,73210	198,519	209,211	11,29660	9,971	14,217

Tabel 2 menunjukkan data rerata densitas sesudah remineralisasi berdasarkan *mean gray value* dan *integrated density*. Berdasarkan *integrated density*, peningkatan densitas setelah remineralisasi dari yang paling besar adalah CPP-ACP (12,36930%), karbonat apatit (11,29660%), dan NaF (10,95510%). Tabel 3 menunjukkan data rerata, minimal, dan maksimal densitas sampel dari pra-tindakan, sesudah demineralisasi, dan sesudah remineralisasi. Data tersebut menunjukkan bahwa penggunaan bahan remineralisasi NaF, CPP-ACP, ataupun karbonat apatit selama 28 hari belum bisa mengembalikan densitas email kembali seperti normal.

Tabel 3. Tabel deskriptif densitas mineral pra-tindakan, sesudah demineralisasi, dan sesudah remineralisasi untuk masing-masing bahan (IntDen)

Bahan remineralisasi	Pra-tindakan			Demineralisasi			Remineralisasi		
	<i>Mean</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>	<i>Mean</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>	<i>Mean</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>
NaF	11,45440	10,000	12,651	10,89330	9,539	11,902	10,95510	9,543	11,937
CPP-ACP	12,84940	10,828	15,332	12,04030	10,201	14,214	12,36930	10,399	14,750
Karbonat Apatit	11,70660	9,994	14,599	11,07470	9,679	14,087	11,29660	9,971	14,217

Tabel 4. Uji normalitas, uji homogenitas, dan *one-way* ANOVA bahan remineralisasi (*IntDen*)

Bahan remineralisasi	Uji Normalitas		Uji Homogenitas	ANOVA
	n	Nilai <i>p</i>	Mean	Nilai <i>p</i>
NaF	10	0,024		
CPP-ACP	10	0,003	0,245	0,043
KA	10	0,044		

Untuk mengetahui perbedaan densitas setelah remineralisasi menggunakan NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit, uji statistik yang dilakukan adalah uji *one-way* ANOVA (tabel 4), Uji normalitas dan homogenitas varians dari data densitas remineralisasi sebagai syarat untuk melakukan uji *one-way* ANOVA, Uji normalitas didapatkan normal dengan $p > 0,05$ dan uji homogenitas varians didapatkan homogen dengan $p > 0,05$, Tabel 4 menunjukkan hasil uji *one-way* ANOVA dengan hasil yang signifikan ($p < 0,05$), Uji lanjutan Tukey kemudian dilakukan untuk mengetahui pasangan mana yang mempunyai hasil yang berbeda nyata, Tabel 5 menunjukkan hasil uji lanjutan Tukey dengan hasil sebagai berikut : 1). Hasil remineralisasi NaF tidak berbeda nyata dengan hasil remineralisasi karbonat apatit, namun berbeda nyata dengan CPP-ACP, 2). Hasil remineralisasi karbonat apatit tidak berbeda nyata dengan hasil remineralisasi NaF maupun CPP-ACP, 3). Hasil remineralisasi CPP-ACP tidak berbeda nyata dengan karbonat apatit, namun berbeda nyata dengan NaF.

Tabel 5. Uji lanjutan Tukey densitas bahan remineralisasi (*IntDen*)

Bahan remineralisasi	n	Densitas	
		1	2
NaF	10	10,95510	
KA	10	11,29660	11,29660
CPP-ACP	10		12,36930
Nilai <i>p</i>		0,813	0,149

PEMBAHASAN

Demineralisasi buatan dilakukan menggunakan larutan asam sitrat 1%, pada penelitian yang dilakukan oleh Irawan *et al.*,²⁸ menunjukkan bahwa asam sitrat dapat menyebabkan erosi yang cepat pada tingkat pH rendah dikarenakan sifatnya sebagai *chelating agent* yang mengikat kalsium pada permukaan email gigi, pada penelitian tersebut, asam sitrat 1% dengan pH 4 yang dipaparkan selama 150 detik terbukti dapat menurunkan tingkat kekerasan email hingga 35%. Penelitian ini, terdapat perubahan densitas email yang signifikan setelah tindakan demineralisasi yaitu sebesar 5,56% dengan menggunakan asam sitrat 1% pH 2,5 selama 24 jam, Perbedaan persentase penurunan setelah demineralisasi, pH asam, dan lamanya waktu demineralisasi karena perbedaan variabel yang dilihat, dari hasil ini dapat diketahui bahwa menguraikan kepadatan mineral email membutuhkan waktu yang lebih lama dan larutan yang lebih asam dibandingkan hanya menurunkan tingkat kekerasannya.²⁸ Tindakan remineralisasi dilakukan dengan menggunakan tiga bahan yang berbeda yaitu NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit, dari hasil remineralisasi didapatkan bahwa ketiganya dapat meningkatkan densitas email secara signifikan ($p < 0,05$), pada penelitian ini, bahan remineralisasi NaF yang mengandung 20,000 ppm dapat meningkatkan densitas setelah remineralisasi sebesar 0,57%. Hasil ini serupa dengan penelitian oleh Kucuk *et al.*,²⁰ yang mengatakan bahwa remineralisasi dengan menggunakan 5,000 ppm NaF dapat meningkatkan densitas mineral sebesar 22%, Hasil ini didukung oleh penelitian oleh Zhi *et al.*,¹⁰ yang mengatakan bahwa aplikasi topikal ion fluorida dapat meningkatkan densitas email dan dentin yang terdemineralisasi.

Diantara ketiga bahan remineralisasi yang digunakan, NaF memiliki persentase peningkatan yang paling rendah, Hal ini dikarenakan mekanisme kerja fluorida yang menghambat pelarutan mineral gigi dengan meningkatkan presipitasi ion kalsium dan fosfat, sehingga mekanisme kerjanya terbatas dengan keberadaan ion tersebut,^{6,10,13} apabila tidak ada ion kalsium ataupun fosfat dari saliva, maka efektivitas NaF dalam proses remineralisasi menjadi berkurang, Berbeda dengan CPP-ACP ataupun karbonat apatit yang secara langsung memiliki bahan aktif kalsium dan fosfat.⁶

Peningkatan densitas setelah remineralisasi dengan menggunakan 10% CPP-ACP pada penelitian ini juga serupa dengan penelitian Kucuk *et al.*,²⁰ pada penelitian ini, remineralisasi selama 28 hari menghasilkan peningkatan densitas email menggunakan CPP-ACP sebesar 2,73% dan pada penelitian oleh Kucuk *et al.*,²⁰ sebesar 25%, walau hasil peningkatan yang terjadi tidak sebesar pada penelitian tersebut, hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Wierichs *et al.*,¹¹ dan Guclu *et al.*,¹⁵ yang mengatakan bahwa CPP-ACP memiliki tingkat remineralisasi yang lebih tinggi dibandingkan fluorida. Wierichs *et al.*,¹¹ mengatakan bahwa CPP-ACP dapat mengalami remineralisasi lesi karies dentin pada kondisi yang terdemineralisasi, sementara fluorida hanya dapat menghambat demineralisasi lebih lanjut. Hal ini karena CPP-ACP memiliki bahan aktif kalsium dan fosfat dalam bentuk amorf yang dapat melakukan remineralisasi lebih dalam dibandingkan NaF.⁶ Remineralisasi menggunakan nano-karbonat apatit juga ditemukan hasil yang signifikan, persentase peningkatan densitas email menggunakan bahan ini sebesar 2%.

Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Negem *et al.*,²⁹ yang mengatakan bahwa karbonat apatit dapat menginduksi remineralisasi konsisten melalui pembentukan lapisan karbonat apatit di permukaan gigi, Lapisan ini disebabkan oleh ikatan kimia dari karbonat apatit sintesis melalui komposisi, struktur, ukuran, dan morfologi pada permukaan hidroksiapatit email. Selain itu, hasil peningkatan remineralisasi dengan karbonat apatit yang lebih tinggi daripada NaF juga sejalan dengan penelitian tersebut. Dibandingkan dengan NaF, karbonat apatit yang digunakan memiliki ukuran lebih kecil yaitu nano, Ukuran lebih kecil memungkinkan karbonat apatit untuk masuk lebih dalam ke email sehingga terjadi remineralisasi yang lebih tinggi, Karbonat apatit juga memiliki sifat amorf, sehingga memiliki tingkat kelarutan yang lebih tinggi dan serupa dengan struktur gigi dibandingkan dengan NaF. Hal ini menyebabkan karbonat apatit menjadi lebih mudah larut dalam rongga mulut dan mengendap pada daerah yang rusak untuk menyediakan kalsium dan fosfat.¹⁸

Penelitian Elsaid *et al.*,³⁰ mengatakan bahwa penggunaan karbonat apatit dapat mempertahankan warna email paling baik dibandingkan bahan remineralisasi lainnya (fluorida, CPP-ACP, dan saliva buatan), Hal serupa didukung penelitian oleh Kim *et al.*,¹⁸ yang mengatakan bahwa CPP-ACP memiliki kemampuan remineralisasi yang rendah. Pernyataan pada kedua penelitian tersebut tidak sejalan dengan yang didapatkan pada penelitian ini, Uji lanjutan Tukey ditemukan bahwa terdapat hasil beda yang nyata pada CPP-ACP dan NaF, Karbonat apatit ditemukan tidak memiliki hasil yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan CPP-ACP maupun dengan NaF, CPP-ACP ditemukan memiliki tingkat remineralisasi paling tinggi diantara ketiganya yaitu sebesar 2,73%.

Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Wierichs *et al.*,¹¹ yang mengatakan bahwa CPP-ACP memiliki efek remineralisasi yang semakin tinggi pada kondisi gigi yang mempunyai tingkat demineralisasi yang tinggi, terutama jika dibandingkan dengan NaF. Perbedaan hasil yang didapatkan mungkin dikarenakan perbedaan variabel yang dilihat, Penelitian yang dilakukan oleh Elsaid *et al.*,³⁰ dan Kim *et al.*,¹⁸ melihat efektivitas bahan remineralisasi dalam menjaga perubahan warna terhadap email yang diputihkan, sementara pada penelitian ini melihat peningkatan densitas mineral. Faktor yang mungkin menjadi alasan perbedaan hasil adalah mekanisme kerja bahan remineralisasi tersebut, Karbonat apatit bekerja dengan membentuk lapisan karbonat apatit di permukaan gigi, membuat gigi menjadi lebih tahan dari perubahan warna,¹⁸ Berbeda dengan CPP-ACP yang bekerja dengan menyerap ke dalam permukaan gigi dan tidak membentuk lapisan di permukaan gigi^{2,7,11}, sehingga dari penelitian ini, dapat dikatakan bahwa CPP-ACP memiliki tingkat remineralisasi densitas mineral yang lebih baik daripada karbonat apatit. Selain itu, hal ini disebabkan oleh ukuran molekul yang dimiliki oleh masing-masing bahan remineralisasi. Natrium fluorida hanya memiliki 2 ikatan ionik yang cenderung lemah, yaitu Na^+ dan F^- . CPP-ACP memiliki senyawa peptida dalam kandungannya, membuat CPP-ACP mempunyai lebih banyak tempat reaksi dibandingkan karbonat apatit.⁷ Perbedaan inilah yang membuat CPP-ACP mempunyai peningkatan remineralisasi yang paling baik diantara ketiganya.

Hasil analisis densitas yang didapatkan melalui radiografi periapikal pada penelitian ini adalah *mean gray value* dan *integrated density*, Hasil *mean gray value* dari yang paling tinggi adalah karbonat apatit (202,73210 *gray value*), NaF (202,37960 *gray value*), dan CPP-ACP (199,23490 *gray value*), Urutan ini berbeda jika dilihat berdasarkan *integrated density*, Urutan densitas dari yang paling tinggi berdasarkan *integrated density* adalah CPP-ACP (12,36930%), karbonat apatit (11,29660%), dan NaF (10,95510%). Perbedaan ini dikarenakan *mean gray value* hanya melihat rerata jumlah *gray value* dari bagian yang dipilih, sementara *integrated density* menghitung area dan *mean gray value* bagian yang dipilih. Sampel pada penelitian ini tidak mempunyai ukuran yang sama, analisis densitas yang digunakan berdasarkan *integrated density*. Hal ini dilakukan untuk mencegah adanya kesalahan hasil densitas karena perbedaan ukuran sampel.³¹

Hasil penelitian ini, dapat dikatakan bahwa hipotesis nol yang diajukan pada awal penelitian tidak diterima, yaitu tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari rerata densitas email setelah tindakan remineralisasi. Penelitian ini ditemukan perbedaan yang signifikan dari densitas email setelah remineralisasi menggunakan NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit. Walau demikian, penggunaan ketiga bahan remineralisasi tersebut belum bisa mengembalikan densitas mineral kembali normal. Hal ini mungkin dikarenakan waktu demineralisasi yang dilakukan lebih panjang (24 jam) dibandingkan waktu remineralisasi yang terjadi (112 menit).²⁸

Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan waktu remineralisasi yang lebih lama untuk mengetahui kemampuan ketiga bahan remineralisasi tersebut dalam mengembalikan densitas email kembali normal, Keterbatasan dari penelitian ini adalah waktu remineralisasi yang terbatas, sehingga saran untuk penelitian kedepannya adalah melakukan tindakan remineralisasi dengan waktu yang lebih panjang, tujuannya adalah untuk mengetahui apakah bahan remineralisasi dapat mengembalikan densitas mineral kembali seperti normal atau tidak.

SIMPULAN

Aplikasi topikal NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit dapat meningkatkan densitas email yang terdemineralisasi melalui proses remineralisasi, dengan yang paling baik diantaranya adalah CPP-ACP.

Kontribusi Penulis: Kontribusi peneliti "Konseptualisasi, H.O.; F.F.; dan L.Y.; metodologi, H.O.P.; perangkat lunak, L.Y.; validasi, H.O.P.; F. L.Y.; P.E.; analisis formal, P.E.; investigasi, H.O.; sumber daya, H.O.; kurasi data, P.E.; penulisan penyusunan draft awal, P.E.; penulisan tinjauan dan penyuntingan, H.O.; F.F.; L.Y.; P.E.; visualisasi, H.O.; F.F.; L.Y. P.E.; supervisi, H.O.; F.F.; L.Y.; administrasi proyek, P.E.; perolehan pendanaan, H.O.; Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan"

Pendanaan: Penelitian ini dibiayai secara mandiri oleh penulis.

Persetujuan Etik: Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental murni dengan menggunakan bahan remineralisasi NaF, CPP-ACP, dan karbonat apatit dengan surat *ethical clearance* nomor 258/UN6.KEP/EC/2022 yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Padjadjaran Bandung.

Pernyataan Ketersediaan Data: Ketersediaan data penelitian akan diberikan seijin semua peneliti melalui email korespondensi dengan memperhatikan etika dalam penelitian.

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

- Scheid RC, Weiss G, Woelfel's dental anatomy, Philadelphia: Wolters Kluwer-Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p.11.
- Hamba H, Nikaido T, Inoue G, Sadr A, Tagami J, Effects of CPP-ACP with sodium fluoride on inhibition of bovine enamel demineralization : A quantitative assessment using micro-computed tomography, J Dent. 2011; 39(6): 405–13, DOI: [10.1016/j.jdent.2011.03.005](https://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.03.005).
- Hayashi-Sakai S, Sakamoto M, Hayashi T, Kondo T, Sugita K, Sakai J, et al, Evaluation of permanent and primary enamel and dentin mineral density using micro-computed tomography, Oral Radiol. 2019; 35(1): 29–34, DOI: [10.1007/s11282-018-0315-2](https://doi.org/10.1007/s11282-018-0315-2).
- Hayashi-Sakai S, Kondo T, Kasuga Y, Sakamoto M, Endo H, Sakai J, Development of phantom for quantitative analyses of human dentin mineral density, Biomed Mater Eng, 2015; 26(1–2): 57–65.
- Dorland, Dorland's Illustrated Medical Dictionary 32nd Ed, Elsevier; 2012, p.487.
- Ritter A V, Boushell LW, Walter R. Sturdevant's Art and Science of Operative Dentistry. 7th Ed. 2019. p.40;80-85
- Jefferies SR, Advances in remineralization for early carious lesions: a comprehensive review, Compend Contin Educ Dent, 2014; 35(4): 237–44.
- Kementarian Kesehatan RI, InfoDATIN Kesehatan Gigi Nasional September 2019, Pusdatin Kemenkes RI, 2019;p,1–6,
- Al Hamed M, Almalki F, Alsalam A, Alotaibi T, Elkatehy W, Effect of different remineralizing agents on the initial carious lesions – A comparative study, Saudi Dent J. 2020; 32(8): 390–5. DOI: [10.1016/j.sdent.2019.11.001](https://doi.org/10.1016/j.sdent.2019.11.001).
- Zhi QH, Lo ECM, Kwok ACY, An in vitro study of silver and fluoride ions on remineralization of demineralized enamel and dentine, Aust Dent J, 2013; 58(1) :50–6.
- Wierichs RJ, Stausberg S, Lausch J, Meyer-Lueckel H, Esteves-Oliveira M, Caries-Preventive Effect of NaF, NaF plus TCP, NaF plus CPP-ACP, and SDF Varnishes on Sound Dentin and Artificial Dentin Caries in vitro, Caries Res, 2018; 52(3): 199–211,
- Zakaria MN, Nurfauziah AM, Sabirin indah PR, Cahyanto A, Uji daya antibakteri semen karbonat apatit terhadap Streptococcus mutans. 2019; 3(2): 150–6.
- Shen P, Manton DJ, Cochrane NJ, Walker GD, Yuan Y, Reynolds C, et al, Effect of added calcium phosphate on enamel remineralization by fluoride in a randomized controlled in situ trial, J Dent. 2011; 39(7): 518–25 DOI: [10.1016/j.jdent.2011.05.002](https://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.05.002).
- Philip N, State of the Art Enamel Remineralization Systems: The Next Frontier in Caries Management, Caries Res, 2019; 53(3): 284–95.
- Güçlü ZA, Alaçam A, Coleman NJ. A 12-Week Assessment of the Treatment of White Spot Lesions with CPP-ACP Paste and/or Fluoride Varnish. Biomed Res Int. 2016; 2016: 8357621. DOI: [10.1155/2016/8357621](https://doi.org/10.1155/2016/8357621).
- Huang GJ, Roloff-Chiang B, Mills BE, Shalchi S, Spiekerman C, Korpak AM, et al, Effectiveness of MI paste plus and PreviDent fluoride varnish for treatment of white spot lesions: A randomized controlled trial, Am J Orthod Dentofac Orthop. 2013; 143(1): 31–41, DOI: [10.1016/j.ajodo.2012.09.007](https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2012.09.007).
- Sitthi Settapong T, Doi T, Nishida Y, Kambara M, Phantumvanit P, Effect of CPP-ACP paste on enamel carious lesion of primary upper anterior teeth assessed by quantitative light-induced fluorescence: A one-year clinical trial, Caries Res, 2015; 49(4): 434–41,
- Kim YS, Kwon HK, Kim BI, Effect of nano-carbonate apatite to prevent re-stain after dental bleaching in vitro, J Dent [Internet], 2011;39(9):636–42, DOI: [10.1016/j.jdent.2011.07.00](https://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.07.00).
- Hutchinson JC, Shelmerdine SC, Simcock IC, Sebire NJ, Arthurs OJ. Early clinical applications for imaging at microscopic detail: microfocus computed tomography (micro-CT). Br J Radiol. 2017; 90(1075): 20170113. DOI: [10.1259/bjr.20170113](https://doi.org/10.1259/bjr.20170113).
- Kucuk EB, Malkoc S, Demir A, Microcomputed tomography evaluation of white spot lesion remineralization with various procedures, Am J Orthod Dentofac Orthop [Internet], 2016;150(3):483–90, DOI: [10.1016/j.ajodo.2016.02.026](https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2016.02.026).
- Arsilan ZB, Demir H, Berker Yildiz D, Yaşar F. Diagnostic accuracy of panoramic radiography and ultrasonography in detecting periapical lesions using periapical radiography as a gold standard. Dentomaxillofac Radiol. 2020; 49(6): 20190290. DOI: [10.1259/dmfr.20190290](https://doi.org/10.1259/dmfr.20190290).
- Poernomo H, Determination Location of Impaction Teeth Radiographically, In: Proceeding Book, 2019, p, 55–61,
- Soerachman B, Sukartini E, Aripin D, The advantage using Ni - Ti rotary instruments as the smoothness of one-third apical root canal wall, Padj J Dent. 2014; 26(3): 147–52, DOI: [10.24198/pjd.vol26no3.14004](https://doi.org/10.24198/pjd.vol26no3.14004).
- Nugroho DA, Aditia I, Perbedaan Kekuatan Geser antara Semen Resin Nanosisal Komposit 60% Wt dan Semen Resin Nanofiller Komposit, Insisiva Dent J Maj Ked Gigi Insisiva, 2020; 9(1): 11–8. DOI: [10.18196/di.9112](https://doi.org/10.18196/di.9112).
- Robertson G, Wallace R, Simpson AHRW, Dawson SP. Preoperative measures of bone mineral density from digital wrist radiographs. Bone Joint Res. 2021; 10(12): 830-9. DOI: [10.1302/2046-3758.1012.BJR-2021-0098.R1](https://doi.org/10.1302/2046-3758.1012.BJR-2021-0098.R1).
- Dantas RV, Sarmento HR, Duarte RM, Meireles Monte Raso SS, de Andrade AK, Dos Anjos-Pontual ML. Radiopacity of restorative composites by conventional radiograph and digital images with different resolutions. Imaging Sci Dent. 2013; 43(3): 145-51. DOI: [10.5624/isd.2013.43.3.145](https://doi.org/10.5624/isd.2013.43.3.145).
- Hamrun N, Kartika D, Tingkat keasaman minuman ringan mempengaruhi kelarutan mineral gigi, Makassar Dent J, 2018; 1(1): 9, DOI: [10.35856/mdj.v1i1.43](https://doi.org/10.35856/mdj.v1i1.43).
- Irawan MIP, Noerdin A, Eriwati YK, The effect of time in the exposure of theobromine gel to enamel and surface hardness after demineralization with 1% citric acid, J. Phys.: Conf. Ser. 884 012005. DOI: [10.1088/1742-6596/884/1/012005](https://doi.org/10.1088/1742-6596/884/1/012005).
- Negem S, Ghali L, Abd Al Khalek W, In Vitro Evaluation of Remineralizing Effect of Nano-Carbonate Apatite on Demineralized Stripped Enamel Surfaces, Suez Canal Univ Med J, 2017; 20(1): 103–13.
- Monteiro D, Moreira A, Cornacchia T, Magalhães C. Evaluation of the effect of different enamel surface treatments and waiting times on the staining prevention after bleaching. J Clin Exp Dent. 2017; 9(5): e677–e681. DOI: [10.4317/jced.53712](https://doi.org/10.4317/jced.53712).
- Ferreira T, Rasband W. ImageJ User Guide User Guide ImageJ. Image J user Guid. 2012;1.46r.