

DENTIN
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol VIII. No 1. APRIL 2024

PENGARUH PERENDAMAN GIGI PADA KITOSAN SISIK IKAN HARUAN (*Channa striata*) TERHADAP PELEPASAN FOSFAT

Muhammad Hafly Fariz Asyraq¹⁾, Deby Kania Tri Putri²⁾, Tri Nurrahman³⁾, Agung Satria Wardhana⁴⁾, Bambang Setiawan⁵⁾

¹⁾ Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

²⁾ Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

³⁾ Departemen Bedah Mulut Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

⁴⁾ Departemen Dental Material Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

⁵⁾ Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

ABSTRACT

Background: Chitosan solution from Haruan fish scales (*Channa striata*) can be used to maintain tooth enamel structure by reducing the rate of solubility of hydroxyapatite or tooth demineralization under acidic conditions. Chitosan haruan fish scale (*Channa striata*) has the potential to be an anti-demineralization agent. **Objective:** Analyze the effect of immersing teeth in chitosan solution of 2.5% and 5% Haruan fish scales (*Channa striata*) on levels of phosphate release. **Method:** This study used the true experimental method with a posttest-only control group design consisting of 3 treatment groups, namely the negative control, the 2.5% group and the 5% group. All groups were immersed in lactic acid solution pH 5.2. Measurement of phosphate release levels using a uv-vis spectrophotometer. **Results:** The results of the One Way Analysis of Variance (ANOVA) test obtained a value of $p = 0.00 < 0.05$ which indicated that the hypothesis was accepted or that there was an effect of soaking the teeth in chitosan solution of Haruan fish scales (*Channa striata*) with a concentration of 2.5% and 5% on phosphate release. The Bonferroni Post Hoc Test showed that there were significant differences in all groups, namely the negative control group with the 2.5% and 5% groups, the 2.5% group and the 5% group. **Conclusion:** Chitosan from Haruan fish scales (*Channa striata*) concentrations of 2.5% and 5% are able to inhibit phosphate release on teeth and have the potential as alternative biomaterials in inhibiting tooth demineralization.

Keywords: Caries, Chitosan, Demineralization, Haruan, Phosphate

ABSTRAK

Latar Belakang: Larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) mampu mempertahankan struktur enamel gigi dengan mengurangi laju kelarutan hidroksiapatit dalam kondisi asam. Kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) berpotensi menjadi agen anti demineralisasi. **Tujuan:** Menganalisis pengaruh perendaman gigi pada larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) 2,5% dan 5% terhadap kadar pelepasan fosfat. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* dengan *posttest only control group design* yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif, kelompok 2,5% dan kelompok 5%. Semua kelompok direndam dalam larutan asam laktat pH 5,2. Pengukuran kadar pelepasan fosfat menggunakan alat spektrofotometer *Uv-Vis*. **Hasil:** Hasil uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) didapatkan nilai $p = 0.00 (< 0.05)$ yang menunjukkan hipotesis diterima atau terdapat pengaruh perendaman gigi pada larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dengan konsentrasi 2,5% dan 5% terhadap pelepasan fosfat. Uji *Pos Hoc Bonferroni* menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada semua kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif dengan kelompok 2,5% dan 5%, kelompok 2,5% dengan kelompok 5%. **Kesimpulan:** Kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) konsentrasi 2,5% dan 5% mampu menghambat pelepasan fosfat pada gigi dan berpotensi sebagai biomaterial alternatif dalam menghambat demineralisasi gigi.

Kata kunci : Demineralisasi, Fosfat, Haruan, Karies, Kitosan,

Korespondensi: Muhammad Hafly Fariz Asyraq; Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Veteran No. 128B, Banjarmasin, Kalimantan Selatan; e-mail: haflyasyraq@gmail.com

PENDAHULUAN

Karies didefinisikan sebagai penyakit infeksi yang berjalan lambat bersifat *irreversibel* dan berkembang secara dinamis.^{1,2} Karies digambarkan sebagai manifestasi patologis jaringan mineral gigi yang mengalami proses pelarutan oleh asam organik sehingga hasil metabolisme karbohidrat seperti sukrosa, fruktosa dan glukosa oleh mikroba dalam bentuk ion hidrogen (H^+). Ion H^+ bersifat reaktif terhadap hidroksiapatit pada pH yang sama dengan atau dibawah 5,5 yang merupakan pH kritis. Ion H^+ melepaskan dan kemudian mengikat fosfat anorganik (PO_4^{3-}) pada ikatan hidroksiapatit $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ membentuk asam fosfat (H_3PO_4), dihidrogen fosfat ($H_2PO_4^-$), dan hidrogen fosfat (HPO_4^{2-}). Fosfat anorganik yang terikat dengan ion H^+ tidak dapat berperan dalam menjaga keseimbangan normal hidroksiapatit, sehingga mengakibatkan luruhnya kristal hidroksiapatit.^{3,4,5}

Fosfat (PO_4^{3-}) merupakan senyawa yang terbentuk dari reaksi fosfor dan oksigen, bersama dengan kalsium berperan menghambat proses demineralisasi melalui mekanisme *common ion effect* dan *buffering*.^{5,6} Proses ini mengakibatkan terjadinya pembentukan kembali kristal hidroksiapatit yang dikenal dengan proses remineralisasi. Remineralisasi berperan penting dalam mengembalikan mineral-mineral yang telah larut pada gigi. Namun, ketika siklus demineralisasi dan remineralisasi tidak seimbang dari waktu ke waktu, atau demineralisasi terjadi tanpa diikuti oleh proses remineralisasi yang memadai, maka proses patogenesis karies akan terus berlanjut.³

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mencegah terjadinya demineralisasi enamel gigi. Studi terbaru di bidang biomedik khususnya kedokteran gigi telah banyak dikembangkan biomaterial yang berpotensi menghambat demineralisasi gigi seperti kitosan.² Kitosan ($C_6H_{11}NO_4$)_n adalah senyawa turunan polisakarida linear kitin yang bersifat biokompatibel, *biodegradable*, tidak bersifat toksik dan dapat terurai secara hayati sehingga kitosan dapat digunakan secara luas di bidang kesehatan.^{3,7} Kitosan dapat disintesis dari berbagai macam organisme termasuk pada sel-sel dibawah lapisan dermis sisik ikan haruan (*Channa striata*).⁸

Penelitian mengenai kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) sudah mulai dilakukan seperti penelitian Putri (2020) mengenai uji karakteristik kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*). Derajat deasetilasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) didapat sebesar 85,25% lebih besar dari nilai kitosan SNI yaitu $\geq 75\%$.⁸ Kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) telah diteliti efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif.^{9,10} Selain bersifat antibakteri, kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) juga telah terbukti mampu menghambat demineralisasi pada enamel gigi.^{3,7} Uji SEM yang dilakukan dengan perbesaran 500x dan 2000x pada struktur enamel gigi yang dipapar oleh asam

memperlihatkan penghambatan kerusakan permukaan enamel yang terdemineralisasi.⁷ Kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) konsentrasi 2,5% dan 5% terbukti mampu menghambat pelepasan kalsium (Ca) dengan kadar pelepasan $<0,001$ ppm pada enamel gigi.³

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dinyatakan laik etik berdasarkan Surat Keterangan Kelaian Etik (*Ethnical Clearance*) No. 078/KEPKG-FKGULM/EC/VI/2023. Penelitian ini menggunakan rancangan *posttest only control group design*. Penelitian ini menggunakan sampel gigi premolar rahang atas sebanyak 15 buah yang dilakukan pengujian pelepasan kadar fosfat yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol merupakan gigi yang dilakukan perendaman pada larutan asam laktat pH 5,2. Kelompok perlakuan yaitu gigi yang dilakukan perendaman dalam larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) konsentrasi 2,5% dan 5%. Jumlah gigi yang direndam pada setiap kelompok berjumlah masing-masing 5 buah.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi box plastik, bur *separating disc*, kuas cat kuku, *straight handpiece low speed*, micromotor, pipet, *beaker glass*, *mortar* dan *pastle*, oven, gelas ukur, tabung erlenmeyer, timbangan analitik, spektrofotometer *Uv-Vis*. Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi gigi premolar 1 atau 2 rahang atas, kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*), larutan NaCl 0,9%, aquades, larutan asam laktat pH 5,2, larutan asam asetat 1%, pumice, cat kuku.³

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik dan Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan April hingga Mei 2023.

Perendaman dan Pembacaan Pelepasan Fosfat

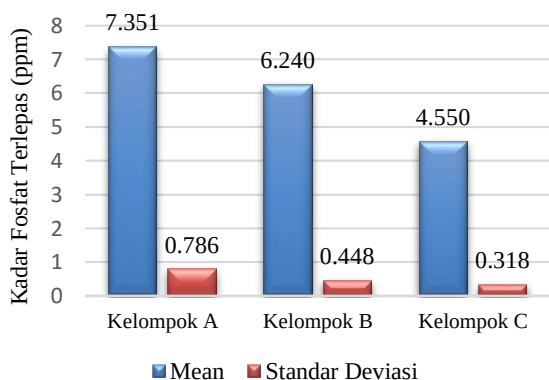
Larutan kitosan sisik ikan haruan pada konsentrasi 2,5% dan 5% disiapkan dengan cara melarutkan kitosan sisik ikan haruan ke dalam asam asetat 1% (berat per volume) dengan masing-masing larutan dihasilkan dalam volume 10 ml.³

Gigi dipotong menggunakan alat *separating disc* pada bagian mahkota dengan akar. Permukaan mahkota gigi bekas pemotongan selanjutnya dilapisi dengan cat kuku. Kemudian dilanjutkan perendaman mahkota gigi selama 30 menit pada larutan asam laktat dengan pH 5,2 yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok A sebagai kontrol negatif yaitu mahkota gigi yang dilakukan perendaman pada larutan asam laktat pH 5,2, kelompok B yaitu mahkota gigi yang dilakukan perendaman dalam larutan asam laktat pH 5,2

ditambahkan 10 ml larutan kitosan sisik ikan haruan 2,5%, kelompok C yaitu mahkota gigi yang dilakukan perendaman dalam larutan asam laktat pH 5,2 ditambahkan 10 ml larutan kitosan sisik ikan haruan 5%. Masing-masing kelompok dilakukan perendaman menggunakan *beaker glass*. Setelah perendaman selesai gigi kemudian dilakukan pengukuran kadar pelepasan fosfat dengan menggunakan alat Spektrofotometer *Ultraviolet Visible (Uv-Vis)* pada panjang gelombang spesifik 650 nm.^{2,3}

HASIL

Pelepasan kadar fosfat pada gigi setelah dilakukan perendaman diukur menggunakan alat spektrofotometer *Uv-Vis* dengan panjang gelombang 650 nm sehingga diperoleh hasil yang disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Nilai Rerata (*mean*) dan Standar Deviasi Kadar Pelepasan Fosfat pada Gigi setelah dilakukan Perendaman

Keterangan :

Kelompok A = Gigi premolar rahang atas direndam dalam larutan asam laktat pH 5,2.

Kelompok B = Gigi premolar rahang atas direndam dalam larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) 2,5% dengan larutan asam laktat pH 5,2.

Kelompok C = Gigi premolar rahang atas direndam dalam larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) 5% dengan larutan asam laktat pH 5,2.

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa rata-rata kadar pelepasan fosfat tertinggi setelah dilakukan perendaman ditunjukkan pada kelompok A yaitu sebesar 7,315 ppm, sedangkan rata-rata kadar pelepasan fosfat terendah pada kelompok C yaitu sebesar 4,550 ppm. Data kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan *Saphiro-Wilk test* dan didapatkan nilai $p > 0,05$ yang menandakan data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varians *Levene's Test* dan didapatkan nilai signifikansi 0,233 ($p > 0,05$) yang menunjukkan varians data homogen. Data kemudian dilakukan uji parametrik *One Way Analysis of Variance (ANOVA)* dengan tingkat kepercayaan 95% dan

didapatkan nilai signifikansi 0,00 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat pengaruh perendaman gigi pada larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dengan konsentrasi 2,5% dan 5% terhadap pelepasan fosfat. Data kemudian dilanjutkan uji *Post Hoc Bonferroni* pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji *Post Hoc Bonferroni* Pelepasan Fosfat pada Gigi setelah Dilakukan Perendaman

Perlakuan	Kelompok A	Kelompok B	Kelompok C
Kelompok A		0,029*	0,000*
Kelompok B			0,001*
Kelompok C			

Keterangan:

* = terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 1, hasil uji *Post Hoc Bonferroni* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok A dengan kelompok B, serta kelompok A dengan kelompok C. Selain itu, data juga menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok B dengan kelompok C. Hal ini dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setiap kelompok dalam penelitian ini.

PEMBAHASAN

Perbedaan rata-rata kadar pelepasan fosfat antara kelompok A dengan kelompok B dan C dapat disebabkan oleh ketidaksamaan tingkat keasaman atau kandungan H^+ dalam masing-masing larutan perendaman. Hal ini disebabkan oleh pengaruh larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) yang mampu menghambat penetrasi asam atau ion H^+ pada gigi.³

Data kelompok A menunjukkan bahwa terdapat pelepasan fosfat sebesar 7,315 ppm. Hal ini membuktikan bahwa telah terjadi proses demineralisasi pada kristal hidroksiapatit setelah dilakukan perendaman selama 30 menit menggunakan asam laktat pH 5,2. Larutan asam memicu demineralisasi pada gigi karena ion H^+ yang terdapat dalam larutan akan memengaruhi ikatan kristal hidroksiapatit pada gigi. Kristal hidroksiapatit ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) yang berwujud solid ketika bertemu dengan asam laktat yang memiliki ion H^+ tidak stabil akan mengakibatkan ion H^+ tersebut berikatan dengan OH^- yang kemudian dapat melarutkan fosfat dari hidroksiapatit.⁷ Larutnya hidroksiapatit ini juga dipengaruhi oleh tingkat keasaman atau kandungan H^+ yang terdapat pada larutan.^{3,11} Larutan asam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu asam laktat pH 5,2. Asam laktat merupakan asam karboksilat dengan rumus molekul ($CH_3CHOHCOOH$). Asam laktat di dalam air terlarut lemah dalam bentuk ion laktat dan akan melepas proton H^+ .¹¹ Ion H^+ akan meningkat dalam kondisi asam seiring menurunnya pH yang mengakibatkan OH^- dari kristal hidroksiapatit enamel akan terlepas dan berikatan

dengan H^+ yang kemudian membentuk air dengan reaksi $H^+ + OH^- \leftrightarrow H_2O$. Hilangnya OH^- dari kristal hidroksiapatit mengakibatkan fosfat anorganik terdegradasi menjadi 4 bentuk yaitu H_3PO_4 , $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} , dan PO_4^{3-} . Bentuk H_3PO_4 , $H_2PO_4^-$, dan HPO_4^{2-} dapat terjadi karena ikatan antara fosfat anorganik dengan H^+ dari larutan asam. Bentuk tersebut tidak dapat memberikan kontribusi dalam menjaga keseimbangan hidroksiapatit normal, sehingga mengakibatkan pelarutan kristal hidroksiapatit.^{12,13}

Pembentukan kompleks khelat antara asam laktat dengan mineral pada kristal hidroksiapatit dapat memengaruhi lepasnya ion fosfat. Proses pembentukan kompleks khelat dapat menyebabkan mineral dalam kristal hidroksiapatit terlepas lebih mudah yang mengakibatkan terjadinya demineralisasi gigi.⁷ Asam laktat yang memiliki gugus $COOH$ akan mengalami proses pemisahan senyawa ionik menjadi ion-ion yang lebih kecil dalam larutan, sehingga akan membentuk H^+ yang berikatan dengan H_2O menjadi H_3O^+ , kemudian COO^- yang tersisa akan berkhelasi dengan ion kalsium (Ca^{2+}) sehingga menyebabkan kristal hidroksiapatit terlarut.¹⁴ Khelasi ini akan memecah struktur pada kristal hidroksiapatit, semakin kuat khelasi yang terjadi mengakibatkan semakin banyak mineral yang terlepas, hal ini mengakibatkan semakin banyak pula ion fosfat yang terlepas dari kristal hidroksiapatit.¹⁵

Data pada kelompok B menunjukkan rata-rata kadar pelepasan fosfat sebesar 6,240 ppm dan kelompok C menunjukkan rata-rata kadar pelepasan fosfat sebesar 4,550 ppm. Pada kelompok B dan kelompok C memperlihatkan hasil pelepasan fosfat yang lebih sedikit dibandingkan kelompok A yang tidak dipapar larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*). Faktor yang menjelaskan mekanisme kitosan dalam menghambat demineralisasi enamel pada lingkungan asam yaitu kitosan memiliki kemampuan untuk berikatan dengan permukaan enamel gigi dan membentuk selubung mekanis yang berguna mencegah penetrasi asam ke dalam gigi. Gugus $-NH_2$ dari kitosan akan berikatan dengan ion H^+ dari asam asetat yang kemudian membentuk $-NH_3^+$ dan membuat molekul bermuatan positif.² $-NH_3^+$ yang bermuatan positif ini kemudian dapat berinteraksi dengan permukaan enamel yang bermuatan negatif sebagai penghalang mekanis untuk mencegah penetrasi asam ke dalam enamel gigi. Hal ini mengakibatkan terhambatnya demineralisasi gigi, sehingga enamel tetap terlindungi dari kerusakan akibat asam.^{2,16}

Penurunan kadar pelepasan fosfat pada kelompok B dan kelompok C menunjukkan bahwa kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) pada konsentrasi 2,5% sudah memiliki gugus amina ($-NH_2$) yang cukup untuk melindungi enamel dari kerusakan akibat adanya demineralisasi. Aktivitas penghambatan demineralisasi ini dapat dikaitkan dengan derajat deasetilasi pada kitosan.³ Kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) yang melalui proses deasetilasi menggunakan 50% natrium

hidroksida pada suhu 80°C memiliki derajat deasetilasi sebesar 85,25% lebih tinggi dari standar kitosan SNI ($\geq 75\%$).⁸ Semakin tinggi nilai derajat deasetilasi kitosan, menandakan bahwa jumlah gugus $-NH_3^+$ bermuatan positif yang terbentuk akan semakin banyak. Hal ini menandakan kemampuan kitosan sebagai penghalang mekanis juga meningkat. Gugus $-NH_3^+$ tersebut dapat berinteraksi dengan permukaan enamel gigi yang bermuatan negatif, membentuk lapisan pelindung yang efektif untuk mencegah penetrasi asam ke dalam enamel gigi. Sehingga, semakin tinggi derajat deasetilasi, semakin efektif kitosan dalam mencegah demineralisasi gigi melalui penghalang mekanis tersebut. Jumlah gugus amina ini berbanding lurus dengan jumlah konsentrasi kitosan, semakin besar konsentrasi kitosan maka semakin besar pula jumlah gugus aminanya.⁸

KESIMPULAN Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) mengakibatkan semakin rendah kadar fosfat yang terlepas pada gigi setelah dipapar oleh asam. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi kitosan yang digunakan maka semakin banyak penghalang mekanis yang terbentuk untuk menghalangi penetrasi asam ke dalam gigi. Berdasarkan temuan tersebut, terbukti bahwa larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) konsentrasi 2,5% dan 5% mampu untuk menghambat pelepasan fosfat pada gigi dan berpotensi sebagai biomaterial alternatif dalam menghambat demineralisasi gigi.

DAFTAR PUSTAKA

- Putri DKT, Kriswandini IL, Luthfi M. "Characterization of streptococcus sanguis molecular receptors for streptococcus mutans binding molecules. Dentin J Kedokt Gigi". 2016: 49(4), 213-117.
- Suriya I, Gunawan HA, Amir LR. "Effect of chitosan on the enamel demineralization process in vitro: an enamel solubility test". J Phys: Conf Ser. 2018: 1073(5), 2-6.
- Ghifari MA, Putri DKT, Dwinuria YE. "Pengaruh perendaman larutan kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) terhadap pelepasan kalsium pada gigi". Dentin J Kedokt Gigi. 2020: 4(3), 107-111.
- Roberts WE, Mangum JE, Schneider PM. "Pathophysiology of demineralization, part ii: enamel white spots, cavitated caries, and bone infection." J Cur Osteo Rep. 2022: 20(1), 106-190.
- Fejerskov O, Kidd E, Nyvad B, Baelum V. 2008. "Dental Caries: The disease and its clinical management". 3rd ed, 227-228 p. Oxford: Black Wiley.
- Musaad I. 2018. "Potensi dan teknologi pemanfaatan fosfat alam sebagai pupuk fosfat plus". 1st ed, 1-78 p. Malang: Brainy Bee.
- Balad DK, Putri DKT, Oktiani BW. "Pengaruh perendaman kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) terhadap struktur email gigi". Dentin J Kedokt gigi. 2021: 5(2), 104-110.
- Putri DKT, Wijayanti DWH, Oktiani BW, Candra, Sukmana BI, Rachmadi P. "Synthesis and characteristics of chitosan from haruan (*channa striata*) fish scales. Syst Rev in Pharm". 2020: 11(4), 15-20.

9. Rahma D, Putri D, Taufiqurrahman I. "Antibacterial activity of chitosan from haruan (*Channa striata*) fish scales against the growth of *porphyromonas gingivalis*". Dentin J Kedokt Gigi. 2020: 5(1), 53.
10. Widyaningrum DRW, Putri DKT, Taufiqurrahman I. "Antibacterial activities of chitosan in haruan fish scales". Dentin J Kedokt Gigi. 2019: 4(2), 162–7.
11. Yuniarti, Achadiyani, Murniati N. :Penggunaan pemutih gigi mengandung hidrogen peroksida 40% dibanding dengan strawberry (*fragaria* x *ananassa*) terhadap ketebalan email, kadar kalsium, dan kekuatan tekan gigi". J Glob Med and Health Com. 2016: 4(1), 7-15.
12. Nasution AI. 2016. "Jaringan keras gigi: aspek mikrostruktur dan aplikasi riset. jaringan keras gigi: aspek mikrostruktur dan aplikasi riset". 1st ed. 13-40 p. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press.
13. Ehrlich H, Koutsoukos PG, Demadis KD, Pokrovsky OS. 2009. "Principles of demineralization: modern strategies for the isolation organic frameworks". 2nd ed, 169-193 p. England: Elsevier.
14. Neel EAA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM. "Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone". Int J of Nano Med. 2016: 11(1), 4743–4755.
15. Featherstone JDB, Lussi A. 2006. "Understanding the chemistry of dental erosion". 66-76 p. Sweedish: Monogram Oral Science.
16. Visveswaraiah PM, Prasad D, Johnson S. "Chitosan a novel way to intervene in enamel demineralization in vitro study". Int J Cur Micro App Sci. 2014: 3(11), 617–623.