

DENTIN
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
VOL X. NO 2. AGUSTUS 2026

PENGARUH GEL KOMBINASI KITOSAN SISIK IKAN HARUAN (*CHANNA STRIATA*) DAN HIDROKSIAPATIT TERHADAP CRYSTALLINITY INDEX ENAMEL

Cetri Bonifasia Sihombing¹⁾, Deby Kania TriPutri²⁾, YusrinieWasiaturrahmah³⁾, Amy Nindia Carabelly⁴⁾, Alfi Yasmina⁵⁾.

¹⁾Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

²⁾Departemen Biologi Oral, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

³⁾Departemen Biomedik, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

⁴⁾Departemen Patologi Oral, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

⁵⁾Fakultas Kedokteran, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

ABSTRACT

Background: Dental caries is a major oral health problem with a prevalence of 43.44% in Indonesia. Commonly used remineralizing agents such as CPP-ACP may trigger allergic reactions in patients with Cow's Milk Allergy (CMA). A combined gel of haruan fish scale chitosan (*Channa striata*) and hydroxyapatite was developed as a safe and effective alternative remineralization agent. **Objective:** To analyze the effect of combined gel of haruan fish scale chitosan (*Channa striata*) and hydroxyapatite on enamel Crystallinity Index (CI) as an indicator of remineralization potential. **Methods:** A true experimental laboratory study was conducted using 12 maxillary first premolar samples divided into four groups: negative control, combined gel of 5% chitosan and 10% hydroxyapatite, combined gel of 10% chitosan and 10% hydroxyapatite, and positive control (CPP-ACP). Demineralization was performed with 37% phosphoric acid for 15 seconds. CI was measured using ATR-FTIR. Data were analyzed using One Way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test. **Results:** The highest CI was observed in the 10% chitosan and 10% hydroxyapatite group (mean 4.18 ± 0.76), followed by 5% chitosan and 10% hydroxyapatite (2.94 ± 0.16), CPP-ACP (2.57 ± 0.37), and the lowest in the negative control (1.62 ± 0.43). One Way ANOVA revealed statistically significant differences between groups ($p=0.003$). **Conclusion:** The combined gel of haruan fish scale chitosan (*Channa striata*) and hydroxyapatite significantly increased enamel Crystallinity Index compared to the untreated group. The combination of 10% chitosan and 10% hydroxyapatite demonstrated the highest CI improvement, surpassing CPP-ACP, indicating its potential as an alternative topical remineralizing agent in preventive dentistry.

Keywords: *Channa striata* fish scale chitosan, Crystallinity Index, demineralization, enamel remineralization, hydroxyapatite.

ABSTRAK

Latar Belakang: Karies gigi merupakan masalah kesehatan mulut dengan prevalensi di Indonesia mencapai 43,44%. Agen remineralisasi seperti CPP-ACP umum digunakan, namun dapat menyebabkan alergi pada pasien dengan Cow's Milk Allergy (CMA). Gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dan hidroksiapatit dikembangkan sebagai alternatif agen remineralisasi yang aman dan efektif. **Tujuan:** Menganalisis pengaruh gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dan hidroksiapatit terhadap Crystallinity Index (CI) enamel sebagai indikator potensi remineralisasi. **Metode:** Penelitian eksperimental murni menggunakan 12 sampel gigi premolar pertama rahang atas yang dibagi menjadi empat kelompok: kontrol negatif, perlakuan gel kombinasi kitosan 5% dan hidroksiapatit 10%, perlakuan gel kombinasi kitosan 10% dan hidroksiapatit 10%, serta kontrol positif (CPP-ACP). Demineralisasi dilakukan dengan asam fosfat 37% selama 15 detik. Pengukuran CI dilakukan menggunakan ATR-FTIR. Data dianalisis menggunakan uji One Way ANOVA dilanjutkan uji post hoc Bonferroni. **Hasil:** Nilai CI tertinggi diperoleh pada kelompok gel kombinasi kitosan 10% dan hidroksiapatit 10% (rerata $4,18 \pm 0,76$), diikuti kitosan 5% dan hidroksiapatit 10% ($2,94 \pm 0,16$), CPP-ACP

($2,57 \pm 0,37$), dan terendah pada kontrol negatif ($1,62 \pm 0,43$). Uji *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p=0,003$). **Kesimpulan:** Gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dan hidroksiapatit terbukti meningkatkan *Crystallinity Index* enamel secara bermakna dibandingkan kelompok tanpa perlakuan. Gel kombinasi kitosan 10% dan hidroksiapatit 10% menunjukkan peningkatan CI tertinggi, bahkan melampaui CPP-ACP, sehingga berpotensi sebagai agen remineralisasi topikal alternatif dalam kedokteran gigi preventif.

Kata kunci : *Crystallinity Index*, Demineralisasi, Hidroksiapatit, Kitosan sisik *Channa striata*, Remineralisasi enamel.

***Korespondensi:** Universitas Lambung Mangkurat Fakultas Kedokteran Gigi Program Studi Kedokteran Gigi Banjarmasin, Indonesia; E-mail cetribonifasia@gmail.com

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan kondisi jaringan keras dan jaringan lunak dalam rongga mulut yang berada dalam keadaan sehat, bebas dari penyakit, serta tidak mengalami gangguan estetik. Menurut *World Health Organization* (WHO), karies gigi dan penyakit periodontal merupakan dua permasalahan kesehatan gigi dan mulut dengan prevalensi tertinggi. Berdasarkan Data Survei Kesehatan Gigi Indonesia tahun 2023, prevalensi karies gigi di Indonesia mencapai 43,44%, sedangkan di Provinsi Kalimantan Selatan tercatat sebesar 43,9%, yang menunjukkan bahwa karies menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang memerlukan perhatian khusus.^{2,3}

Karies termasuk penyakit infeksi yang merusak jaringan keras gigi. Penyakit ini terjadi ketika tidak tercapainya “*oral balance*” antara kebersihan mulut, ketersediaan *flouride*, pola makan, dan produksi saliva. Kejadian tersebut kemudian mempengaruhi keseimbangan aktivitas mikroba pada rongga mulut.⁴ Proses fermentasi karbohidrat oleh kuman flora normal rongga mulut menghasilkan asam piruvat dan asam laktat melalui proses glikolisis oleh *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus sp.* Asam-asam tersebut bertanggungjawab dalam proses larutnya mineral-mineral enamel gigi.⁵

Demineralisasi berlangsung saat pH dalam mulut berada pada nilai kritis 5,5 dan bertahan hingga 30 menit.⁶ Mineral yang terlarut saat demineralisasi jika tidak segera digantikan, secara perlahan akan menyebabkan mikroporositas pada permukaan gigi dan seiring berjalannya waktu akan mempengaruhi kekerasan enamel. Oleh karena itu, penanganan pada struktural enamel gigi menjadi hal yang harus diprioritaskan.⁷

Remineralisasi menjadi proses penting untuk mengatasi pelepasan mineral berlebihan pada gigi. Proses remineralisasi dapat terjadi secara alamiah apabila terdapat keseimbangan antara demineralisasi dengan buffer dan laju alir saliva.⁷ Beberapa orang dengan kondisi

kesehatan tertentu tidak didapatkan laju aliran saliva yang memadai seperti pada pasien dengan penyakit kardiovaskular, gangguan pada kelenjar, efek radioterapi pada kepala serta leher, serta pasien dengan *oral habit* tertentu.⁸⁻¹⁰ Penambahan bahan lain diperlukan untuk menginduksi remineralisasi terjadi lebih cepat dengan peningkatan supersaturasi kalsium dan fosfat di lingkungan rongga mulut.⁹ Solusi ini menjadi tindakan non-invasif yang sangat dianjurkan dan dikembangkan dalam bidang kedokteran gigi preventif saat ini.⁴

Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) merupakan agen remineralisasi yang sering digunakan karena dapat mengurangi proporsi bakteri kariogenik serta dapat mengurangi hipersensitivitas dentin. Selain itu CPP-ACP dapat melindungi gigi dari asam yang terdapat pada makanan dan minuman. Meskipun demikian, penggunaan CPP dapat menyebabkan reaksi alergi berat pada pasien dengan *Cow's Milk Allergy* (CMA).¹¹ Agen remineralisasi seperti hidroksiapatit menjadi salah satu bahan alternatif CPP-ACP. Hidroksiapatit membantu pengembalian jaringan tulang dan gigi. Hidroksiapatit eksternal tentunya memiliki kemiripan dengan komponen mineral anorganik tulang dan gigi karena sekitar 70% hingga 80% berat dentin dan enamel berasal dari hidroksiapatit.¹² Hidroksiapatit pada enamel akan menimbulkan ikatan dengan ion H^+ yang meningkat secara bebas dari proses demineralisasi. Reaksi ion H^+ dengan hidroksiapatit menghasilkan Ca^{2+} , $(HPO_4)_3$, dan OH^- .^{13,14} Reaksi tersebut menghasilkan ion fosfat yang tidak stabil.¹⁵ Penambahan hidroksiapatit eksternal yang mengandung kalsium dan fosfat serta peran kapasitas *buffer* saliva sangat diperlukan untuk mendukung terjadinya remineralisasi pada gigi.^{13,14} Hidroksiapatit juga memiliki sifat biokompatibilitas dan bioaktif yang baik.¹² Penelitian Devitasari dkk (2019) menunjukkan pasta hidroksiapatit tulang ikan nila konsentrasi 10% memicu terjadinya remineralisasi dan terdapat peningkatan kekerasan pada enamel gigi.¹⁶ Namun, agen

remineralisasi tersebut tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri karena kemampuan penetrasi senyawa kimia yang tidak cukup kuat untuk merusak lapisan membran sel bakteri.¹⁷ Hidroksiapatit perlu dikombinasikan dengan bahan yang mendukung proses remineralisasi dalam keadaan asam seperti penghalang mekanis untuk menghambat demineralisasi.^{6,17}

Bahan yang memiliki kemampuan baik untuk meningkatkan kinerja hidroksiapatit dalam proses remineralisasi adalah kitosan. Remineralisasi yang melibatkan peran kitosan menunjukkan deposit mineral pada enamel terdemineralisasi.^{18,19} Hal ini merujuk pada sifat kitosan yang pada pH rendah akan berikatan dengan ion hidrogen sehingga membentuk NH_3^+ bermuatan positif dan menciptakan kemampuan bioadhesif kitosan pada permukaan enamel yang bermuatan negatif.^{20,21}

Kitosan sisik ikan haruan terbukti memiliki sifat antidemineralisasi yang kuat. Penelitian Balad (2021) menunjukkan larutan kitosan sisik ikan haruan dapat menghambat demineralisasi dan mempengaruhi struktur enamel gigi. Pengamatan *Scanning Electron Microscope* (SEM) pada gigi dengan penambahan larutan kitosan sisik ikan haruan konsentrasi 5% memperlihatkan gambaran permukaan enamel yang baik dan adanya partikel kitosan sisik ikan haruan terlihat membentuk lapisan film tipis dan melindungi enamel gigi dari demineralisasi.²² Penelitian berikutnya oleh Asyraq (2023) menunjukkan larutan kitosan konsentrasi 5% mampu menghambat terjadinya pelepasan fosfat sehingga demineralisasi dapat dicegah.²³ Berdasarkan penelitian tersebut, konsentrasi 5% dipilih untuk penelitian lanjutan.^{22,23}

Selain sifat antidemineralisasi, kitosan sisik ikan haruan juga terbukti memiliki sifat antibakteri. Gugus amina NH_2 pada kitosan sisik ikan haruan dapat berinteraksi dengan kelompok OH^- karboksilat dari membran sel bakteri yang bermuatan negatif. Interaksi ini membentuk elektrostatika, yang mengakibatkan ketidakstabilan dan peningkatan permeabilitas membran sel bakteri, yang mengakibatkan kebocoran ion K^+ , protein, asam nukleat, dan glukosa. Kebocoran tersebut menyebabkan kematian sel bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat.²⁴ Penelitian Wahyuda (2023) menunjukkan larutan kitosan sisik ikan haruan konsentrasi 10% memiliki efektivitas tinggi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan sebanding dengan klorheksidin glukonat 0,2%.²⁴

Berdasarkan penelitian Balad (2021),

pengujian dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM), menghasilkan data yang dianalisis secara kualitatif.²² Analisis mineral enamel dapat dilakukan secara kuantitatif menggunakan pengujian lain untuk melihat perbedaan antar perlakuan dengan data numerik. Uji yang dapat dilakukan menggunakan alat uji seperti *Attenuated Total Reflectance-Fourier Transform Infrared* (ATR-FTIR). Pengujian ini juga dapat dilakukan dengan cepat dengan persiapan sampel yang minimal. ATR-FTIR akan menghasilkan nilai absorbansi pada bilangan gelombang tertentu.^{25,26} Hasil uji ATR-FTIR dapat mengukur terjadinya suatu remineralisasi melalui peningkatan nilai *Crystallinity Index* (CI). CI berkaitan dengan pembentukan kristal hidroksiapatit yang terjadi. Penghitungan CI dilakukan dengan membandingkan nilai absorbansi $\nu_3 \text{PO}_4$ phosphate sub-band areas yaitu 1030 cm^{-1} (stoichiometric apatites) dan 1020 cm^{-1} (nonstoichiometric apatites).²⁷

Berdasarkan beberapa pencarian yang sudah dilakukan oleh calon peneliti, penggunaan gabungan agen remineralisasi yang berbeda efektif dalam mengurangi mikroporositas.²⁸⁻³⁰ Pengaplikasian dalam bentuk gel dinilai mudah diterima oleh struktur gigi dan efektif karena dapat menutupi seluruh lengkung gigi.³¹ Natrium karboksimetil selulosa (Na-CMC), yang merupakan salah satu derivat selulosa, banyak dimanfaatkan sebagai *gelling agent* karena mampu menghasilkan sediaan gel dengan pH netral, viskositas yang stabil, serta daya lekat yang baik.³² Struktur enamel gigi memiliki kemampuan untuk ditembus oleh ion-ion yang terkandung dalam sediaan gel, sehingga ion tersebut dapat berpenetrasi ke permukaan gigi setelah aplikasi.³³ Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan sediaan gel kombinasi kitosan yang berasal dari sisik ikan haruan dan hidroksiapatit serta mengevaluasi potensi sediaan tersebut dalam meningkatkan remineralisasi enamel gigi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris murni (*true experimental design*) dengan rancangan *post-test only control group design*, di mana pengukuran dilakukan setelah seluruh perlakuan diberikan kepada masing-masing kelompok. Pemilihan sampel dilakukan menggunakan teknik *purposive sampling* berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan sebelumnya. Jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus analitik komparatif numerik tidak berpasangan untuk lebih dari dua kelompok, sehingga

diperoleh total 12 sampel gigi. Sampel tersebut kemudian dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan, dengan masing-masing kelompok terdiri atas tiga sampel.

Kelompok penelitian terdiri atas kontrol negatif (K-), kontrol positif menggunakan CPP-ACP (K+), serta dua kelompok perlakuan gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dan hidroksiapatit dengan konsentrasi masing-masing 5% (PI) dan 10% (PII). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah gel kombinasi tersebut, sedangkan variabel terikat adalah nilai *Crystallinity Index* (CI) yang menggambarkan tingkat kristalinitas enamel sebagai indikator remineralisasi, yang diukur menggunakan ATR-FTIR. Variabel terkontrol meliputi proses demineralisasi dengan asam fosfat 37% selama 15 detik serta aplikasi bahan remineralisasi dua kali sehari selama 14 hari.

Sampel yang digunakan adalah gigi premolar pertama rahang atas pasca-ekstraksi ortodontik yang memenuhi kriteria inklusi (bebas karies, fraktur, erosi, abrasi, dan diskolorasi) serta eksklusi (anomali gigi, fraktur, dan perlakuan H_2O_2). Gel uji diformulasikan dari kitosan sisik ikan haruan, hidroksiapatit, dan bahan tambahan lain seperti Na-CMC, gliserin, nipagin, dan propilen glikol. Saliva buatan digunakan sebagai media inkubasi selama perlakuan berlangsung.

Prosedur penelitian meliputi demineralisasi enamel menggunakan asam fosfat, aplikasi gel kombinasi atau CPP-ACP, serta inkubasi dalam saliva buatan selama 14 hari dengan penggantian rutin. Setelah perlakuan, sampel dipreparasi menjadi serbuk enamel dan dianalisis menggunakan ATR-FTIR untuk menghitung nilai CI berdasarkan perbandingan puncak 1030 cm^{-1} dan 1020 cm^{-1} . Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS dengan uji Shapiro-Wilk, Levene's test, One Way ANOVA, dan uji lanjut Bonferroni untuk melihat perbedaan antar kelompok.

HASIL

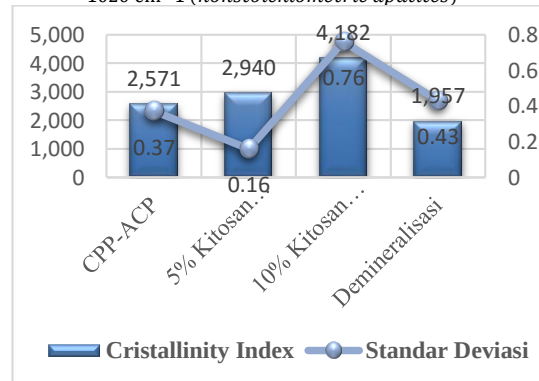
Penelitian yang berjudul “Pengaruh Gel Kombinasi Kitosan Sisik Ikan Haruan (*Channa striata*) dan Hidroksiapatit terhadap *Crystallinity Index* (CI) Enamel” dilaksanakan pada Desember 2025 hingga Januari 2026. Proses pembuatan gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dilakukan di Laboratorium Biologi, Teknologi, dan Farmakologi Farmasi, Universitas Sari Mulia. Tahap perlakuan terhadap sampel dilaksanakan di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin. Selanjutnya, analisis *Crystallinity*

Index (CI) menggunakan metode *Attenuated Total Reflectance–Fourier Transform Infrared* (ATR-FTIR) dilakukan di Laboratorium Kimia, Universitas Sari Mulia, Banjarmasin. Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan dengan nomor keterangan kelaikan etik No. 043/KEPKG-FKGULM/EC/XII/2025.

Hasil penelitian diperoleh berupa pita serapan pada bilangan gelombang tertentu. Bilangan gelombang yang dihasilkan berasal dari 12 sampel dengan 3 sampel pada setiap perlakuannya. Kelompok pada penelitian ini adalah kelompok kontrol positif dengan pengolesan CPP-ACP, terdiri dari kode sampel K+1, K+2, dan K+3. Kelompok berikutnya adalah kelompok perlakuan dengan pengolesan gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan 5% dan hidroksiapatit 10%, terdiri dari kode sampel PGI-1, PGI-2, dan PGI-3. Kelompok selanjutnya adalah kelompok perlakuan dengan pengolesan gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan 10% dan hidroksiapatit 10%, terdiri dari kode sampel PGII-1, PGII-2, dan PGII-3. Kelompok terakhir pada penelitian ini adalah kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan apapun setelah dilakukan demineralisasi dengan asam fosfat 37%, terdiri dari kode sampel K-1, K-2, dan K-3. Spektrum yang dihasilkan dari semua kelompok memiliki pola yang hampir sama. Setelah hasil spektrum didapatkan, akan dilakukan pengolahan data mentah pada *software* origin untuk melihat nilai absorbansi dari puncak pita serapan.

CI umumnya digunakan untuk mengukur suatu fraksi ataupun persentase kristalin suatu bahan.³⁴ Penghitungan CI dilakukan dengan membandingkan nilai absorbansi hasil uji ATR-FTIR $v3\text{ PO}_4\text{ phosphate sub-band areas}$ yaitu 1030 cm^{-1} (*stoichiometric apatites*) dan 1020 cm^{-1} (*nonstoichiometric apatites*).²⁷

$$\text{Crystallinity Index (CI)}^{27} = \frac{1030\text{ cm}^{-1} (\text{stoichiometric apatites})}{1020\text{ cm}^{-1} (\text{nonstoichiometric apatites})}$$



Gambar 1. Grafik *Crystallinity Index* kelompok perlakuan Data yang didapatkan kemudian

dianalisis dengan menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan bermakna secara statistik pada kandungan CI enamel karena nilai $p < 0,05$ berdasarkan uji *One Way Anova* yaitu 0,003. CI enamel pada ketiga kelompok perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberikan pengolesan agen remineralisasi.

Pertama dilakukan uji normalitas data *Shapiro wilk* dan hasil uji menunjukkan data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas dan didapatkan data yang homogen. Uji dapat dilanjutkan dengan Uji *One Way Anova*. Tabel hasil uji *One Way Anova* menunjukkan Nilai $p < 0,05$. Uji dapat dilanjutkan pada uji *post hoc Bonferroni* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan. Secara statistik terdapat perbedaan bermakna antara kelompok CPP-ACP dan gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan 10% dan hidroksiapatit 10% serta perbedaan bermakna antara gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan 10% dan hidroksiapatit 10% dan kelompok yang tidak diberikan perlakuan (demineralisasi).

PEMBAHASAN

Enamel merupakan jaringan paling keras pada tubuh manusia yang tersusun dari mineral hidroksiapatit. Komposisi enamel terdiri dari sekitar 95-97% mineral, kurang dari 2% bahan organik, serta sekitar 3-4% air. Kandungan mineral yang sangat tinggi tersebut menyebabkan sifat mekanik enamel sangat dipengaruhi oleh struktur dan keteraturan kristal hidroksiapatit yang menyusunnya. Salah satu parameter yang digunakan untuk menggambarkan tingkat keteraturan struktur kristal tersebut adalah *Crystallinity Index* (CI).³⁵

Parameter CI digunakan untuk menggambarkan tingkat keteraturan struktur kristal suatu material. Material biomineral seperti hidroksiapatit, nilai CI menunjukkan proporsi bagian material yang memiliki struktur kristal teratur dibandingkan dengan bagian amorf. Semakin tinggi nilai CI, maka semakin tinggi tingkat keteraturan kristal pada material tersebut.³⁶ Dalam konteks enamel gigi, nilai CI menunjukkan tingkat keteraturan susunan kristal hidroksiapatit dalam jaringan enamel. Semakin tinggi nilai CI, maka semakin teratur susunan kristal hidroksiapatit yang terbentuk. Struktur kristal yang lebih teratur biasanya memiliki ukuran kristal yang lebih besar serta jumlah cacat kisi kristal (*lattice defects*) yang lebih sedikit.³⁷ Struktur kristal yang lebih baik membuat enamel lebih tahan terhadap penetrasi asam sehingga

proses demineralisasi berlangsung lebih lambat. Hal tersebut berkontribusi pada peningkatan ketahanan enamel yang berperan dalam menghambat inisiasi dan progresi karies gigi.³⁸

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan terhadap pengaruh gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dan hidroksiapatit terhadap nilai CI enamel. Gigi yang diberi perlakuan gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) 10% dan hidroksiapatit 10% memiliki nilai CI enamel yang paling tinggi. Sementara itu, kontrol negatif dengan gigi yang tidak diberikan perlakuan agen remineralisasi memiliki nilai CI enamel yang paling rendah.

Data penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan agen remineralisasi menunjukkan nilai CI sebesar 1,62. Nilai CI pada kelompok ini merupakan nilai terendah dari keempat kelompok perlakuan. Hal tersebut terjadi karena terdapat proses demineralisasi yang tidak diikuti dengan adanya proses remineralisasi.^{39,40} Pengolesan asam fosfat 37% ($H_3 PO_4$) mendorong hidroksiapatit terlarut untuk mempertahankan keseimbangan kimia. Proses pelarutan dimulai ketika ion H^+ dari asam fosfat bereaksi terhadap ion PO_4^{3-} dan OH^- yang terdapat dalam kisi kristal hidroksiapatit. Protonasi ion-ion ini berlangsung melalui dua reaksi simultan $PO_4^{3-} + H^+ \rightarrow HPO_4^{2-}$ dan $OH^- + H^+ \rightarrow H_2 O$. Ion PO_4^{3-} kehilangan satu muatan negatifnya dan berubah menjadi HPO_4^{2-} melalui reaksi protonasi tersebut, sementara gugus OH^- berubah menjadi molekul air dan sepenuhnya hilang dari kisi kristal.^{38,41}

Protonasi ion PO_4^{3-} dan OH^- oleh H^+ akibat etsa asam fosfat 37% menyebabkan peningkatan fraksi amorf pada permukaan enamel dan disolusi kristal hidroksiapatit melalui pelarutan pada inti prisma enamel.^{38,42} Pengamatan SEM menampilkan struktur visual berupa “*honey comb*” yang khas. Inti prisma yang rusak tampak seperti lubang-lubang kosong, sedangkan selubung luarnya cenderung lebih mampu bertahan. Kisi kristal hidroksiapatit mengalami kekacauan struktur kristal (*lattice disorder*) dan menyebabkan penurunan kristalinitas. Hal ini mengakibatkan tampilan permukaan enamel yang kasar, berpori, dan tidak teratur.⁴²⁻⁴³

Data penelitian dapat menyatakan bahwa hipotesa gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dan hidroksiapatit berpengaruh terhadap peningkatan CI enamel telah terbukti benar. Data penelitian pada kelompok perlakuan gel kombinasi kitosan sisik ikan haruan (*Channa striata*) dan hidroksiapatit menunjukkan

peningkatan nilai CI dari kelompok yang tidak diberi perlakuan. Nilai CI pada kelompok perlakuan gel kombinasi kitosan (*Channa striata*) 5% dan hidroksiapatit 10% memiliki rata-rata 2,94 dan nilai CI pada kelompok perlakuan gel kombinasi kitosan (*Channa striata*) 10% dan hidroksiapatit 10% memiliki nilai 4,18. Penambahan hidroksiapatit eksternal yang mengandung kalsium dan fosfat serta peran kapasitas *buffer* saliva sangat diperlukan untuk mendukung terjadinya remineralisasi pada gigi.^{13,14} Hidroksiapatit memiliki rumus kimia $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ dengan rasio $\text{Ca/P}=1,67$. Kisi kristalnya terdiri dari ion Ca^{2+} , ion PO_4^{3-} yang membentuk tetrahedra fosfat, dan gugus OH^- yang berjajar di sepanjang sumbu-c Kristal.⁴⁴ Proses remineralisasi enamel oleh hidroksiapatit eksternal terjadi melalui mekanisme nukleasi heterogen epitaksial. Ketika partikel hidroksiapatit melepaskan Ca^{2+} dan PO_4^{3-} ke lingkungan enamel yang mengalami demineralisasi, ion-ion tersebut memanfaatkan ujung-ujung kristal hidroksiapatit alami yang tersisa akibat demineralisasi asam sebagai *residual crystal seeds*.⁴⁵ Penataan kembali orientasi geometris mineral baru yang searah dengan sumbu-c ini akan menurunkan regangan kisi (*lattice strain*).^{45,46} Ion yang dilepaskan hidroksiapatit, terutama Ca^{2+} , HPO_4^{2-} , dan H_2PO_4^- , menjadi substrat utama pertukaran ion dengan kitosan.⁴⁴

Gugus $-\text{NH}_2$ kitosan memiliki pasangan elektron bebas pada atom nitrogen yang memungkinkan pembentukan ikatan dengan ion Ca^{2+} dari kisi hidroksiapatit. Gugus amina dari kitosan mengkelat ion fosfat, menyediakan lingkungan yang baik bagi pembentukan kristal hidroksiapatit. Gaya tarik ionik yang kuat antara ion fosfat bermuatan negatif dan gugus amino bermuatan positif dari kitosan, serta gaya ion-dipol yang lemah antara ion kalsium dan gugus amida dari kitin, dapat mengontrol konsentrasi ion lokal.⁴⁷ Fungsi kimiawi kitosan juga mengatur laju pelepasan dan pengendapan ion mineral secara terkontrol. Gugus karboksil dan hidroksil dari rantai kitosan dapat mencegah presipitasi spontan kalsium fosfat dengan cara mengkelat ion kalsium, yang penting untuk menstabilkan ACP (*amorphous calcium phosphate*) dan mendorong pembentukan prekursoranya. Tanpa kitosan, ion Ca^{2+} dan PO_4^{3-} yang dilepaskan dari hidroksiapatit akan langsung berpresipitasi secara spontan di permukaan enamel menjadi ACP yang amorf, tidak terstruktur dan tidak meningkatkan CI. Dengan adanya kitosan, ion-ion ini ditahan sementara dalam kompleks kitosan-ion sebelum kemudian dilepaskan secara teratur menuju

lapisan *subsurface* lesi enamel. Pada lapisan tersebut akan terjadi pembentukan kristal hidroksiapatit yang teratur.⁴⁸

Data penelitian pada kelompok kontrol positif dengan pengolesan CPP-ACP menunjukkan nilai CI sebesar 2,57. Nilai CI pada kelompok ini mengalami peningkatan dari kelompok kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan remineralisasi. Hal tersebut menandakan bahwa telah terjadi perbaikan struktur enamel melalui pemberian agen remineralisasi. *Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate* (CPP-ACP) merupakan agen remineralisasi berbasis protein yang berasal dari hasil hidrolisis tripsin protein susu kasein. CPP adalah peptida multifosforilasi yang mengandung gugus kluster *phosphoserine* yang secara signifikan meningkatkan kelarutan kalsium fosfat dengan cara menstabilkan *amorphous calcium phosphate* (ACP) dalam kondisi netral hingga alkali. CPP bekerja sebagai pembawa ion anorganik (*inorganic ion carrier*) yang mengenkapsulasi ion Ca^{2+} dan PO_4^{3-} dalam bentuk nanokompleks CPP-ACP berukuran nanometer, bersifat tidak toksik dan biokompatibel.^{49,50}

Pengaplikasian CPP-ACP secara topikal pada enamel yang mengalami demineralisasi mengakibatkan nanokompleks CPP-ACP berdifusi masuk ke mikroporositas permukaan enamel.⁵⁰ Pada tahap pertama, gugus *phosphoserine* dari CPP berinteraksi langsung dengan Ca^{2+} yang terekspos akibat kristal hidroksiapatit (HAP) yang telah terlarut sebagian. Interaksi tersebut terjadi melalui ikatan ionik antara gugus $-\text{OPO}_3^{2-}$ dengan ion Ca^{2+} pada permukaan enamel. Pengikatan ini memungkinkan CPP terlokalisasi di permukaan enamel dan mempertahankan supersaturasi ion Ca^{2+} dan PO_4^{3-} di sekitar permukaan gigi. Proses tersebut menekan demineralisasi lebih lanjut sekaligus mendorong proses remineralisasi.^{49,51} ACP yang dilepaskan dari nanokompleks merupakan senyawa awal tidak stabil, yang secara termodinamika cenderung bertransformasi menjadi kristalin hidroksiapatit melalui tahapan: $\text{ACP} \rightarrow \text{dicalcium phosphate dihydrate (DCPD)} \rightarrow \text{octacalcium phosphate (OCP)} \rightarrow \text{calcium-deficient hydroxyapatite (CDHA)} \rightarrow \text{kristalin hidroksiapatit}$. Setiap tahap transformasi ini disertai peningkatan keteraturan kisi kristal dan penguatan ikatan Ca-O dan P-O dalam tetrahedra fosfat (PO_4^{3-}) dan menghasilkan struktur hidroksiapatit yang semakin kristalin.³⁸

Salah satu alasan kombinasi kitosan dan hidroksiapatit menghasilkan nilai CI yang lebih tinggi dibandingkan CPP-ACP berkaitan dengan

sifat intrinsik hidroksiapatit dan kitosan itu sendiri. Morfologi dan struktur kristal nanopartikel hidroksiapatit serupa dengan kristal apatit enamel gigi, sehingga menjadikannya agen remineralisasi potensial pada enamel terdemineralisasi. CPP-ACP melakukan remineralisasi melalui deposit mineral yang masih berupa kalsium fosfat amorf (ACP), mengakibatkan sifat mekanik enamel yang diremineralisasi dengan CPP-ACP relatif lebih lemah. Hal tersebut menyebabkan proses pembentukan kristal baru dengan hidroksiapatit berlangsung jauh lebih efisien.^{52,53} Selain itu, gugus amina dari kitosan menyediakan lingkungan yang baik bagi pembentukan kristal hidroksiapatit.⁴⁷

Konsentrasi kitosan yang semakin tinggi (10%) pada gel kombinasi juga menyebabkan interaksi elektrostatik antara muatan positif kitosan dengan permukaan enamel bermuatan negatif akibat demineralisasi menjadi jauh lebih kuat. Hal ini memperpanjang waktu kontak gel dengan permukaan enamel, memberikan lebih banyak waktu untuk pelepasan ion Ca^{2+} dan PO_4^{3-} dari hidroksiapatit serta masuk ke dalam kisi kristal enamel. Selain itu, dengan konsentrasi kitosan yang lebih tinggi, lebih banyak ion Ca^{2+} yang ditahan oleh kitosan sebelum dilepaskan secara teratur ke dalam lesi enamel. Pelepasan ion yang terkontrol (*controlled release*) ini memungkinkan pembentukan kristal yang lebih teratur.⁴⁸

Penelitian ini menjadi penelitian awal yang meneliti potensi remineralisasi gel kombinasi kitosan dan hidroksiapatit melalui salah satu faktor remineralisasi. Parameter remineralisasi yang dianalisis masih hanya terbatas pada nilai CI enamel menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Penelitian ini belum mengukur parameter lain yang juga dapat digunakan untuk mengevaluasi proses remineralisasi secara lebih komprehensif, seperti *mineral-to-matrix ratio* dan *phosphate-to-carbonate ratio*. Tidak diukurnya kedua parameter tersebut menyebabkan evaluasi terhadap perubahan komposisi mineral enamel belum dapat menggambarkan proses remineralisasi secara menyeluruh. Keterbatasan pada sampel membuat kedua hal tersebut tidak dapat diukur secara spesifik.

KESIMPULAN

Proses demineralisasi enamel menyebabkan penurunan nilai *Crystallinity Index* (CI) yang menunjukkan berkurangnya keteraturan kristal hidroksiapatit akibat paparan asam. Pemberian gel kombinasi kitosan sisik

ikan haruan (*Channa striata*) 5% dan 10% dengan hidroksiapatit 10% mampu meningkatkan nilai CI dibandingkan kelompok kontrol negatif, yang menandakan adanya potensi remineralisasi dan perbaikan struktur enamel. Kelompok CPP-ACP sebagai kontrol positif juga menunjukkan peningkatan CI, namun tidak melebihi kelompok gel kombinasi. Secara keseluruhan, terdapat perbedaan potensi remineralisasi antar kelompok, di mana gel kombinasi kitosan dan hidroksiapatit menunjukkan efektivitas dalam meningkatkan kristalinitas enamel pascademineralisasi berdasarkan hasil uji ATR-FTIR.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sumadewi KT, Harkitasari S. Edukasi kesehatan gigi dan mulut serta cara menggosok gigi pada anak sekolah dasar di Banjar Bukian, Desa Pelaga. *J WMMJ Warmadewa Minesterium Med J*. 2023;2(1):1–7.
2. Saputera B, Wicaksono DA, Khoman JA. Efektivitas Permen Karet Xylitol dalam Menurunkan Plak. *e-GiGi*. 2021 May 4;9(2):139.
3. Riskesdas. Survei Kesehatan Indonesia (SKI) Dalam Angka Dalam Angka. Vol. 01, Kota Bukittinggi Dalam Angka. 2023. 1–68 p.
4. Phang KM, Sukumaran P, Yahya NA, Salihu Farook M. Intervention of White Spot Lesions. *A Contemporary Review of 20 years*. *Ann Dent*. 2023;29:60–70.
5. Subekti AS, Wiradona I, Dyah Utami WJ, Rinawati L, Wahyuningtyas MG. Changes in Salivary pH After Consuming Sorghum-Based Non-Cariogenic Biscuits. *J Kesehat Gigi*. 2024;11(1):56–61.
6. Haberal M. White Spot Lesions: Diagnosis and Treatment Methods. *Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg*. 2024;26(1):109–16.
7. Anil A, Ibraheem W, Meshni A, Reghunathan P, Anil S. Demineralization and Remineralization Dynamics and Dental Caries. *Curr Oncol*. 2018;25(4):e275–81.
8. Miranda-Rius J, Brunet-Llobet L, Lahor-Soler E, Farré M. Salivary secretory disorders, inducing drugs, and clinical management. *Int J Med Sci*. 2015;12(10):811–24.
9. Popescu F, Tudor A, Mihăilă R. Saliva pH and Flow Rate in Patients with Periodontal Disease and Associated Cardiovascular Disease. 2021;1–13.
10. Setyowati DI, Dewi LR, Hernawati S, Triwahyuni IE, Marari SZ. Salivary flow rate and incidence of oral candidiasis in elderly smokers and nonsmokers. *J Kedokt Gigi Univ Padjadjaran*. 2020;32(3):164.
11. Matsui T, Naito M, Kitamura K, Makino A, Sugiura S, Izumi H, et al. Casein phosphopeptide in cow's milk is strongly allergenic. *Authorea*. 2021;1–4.
12. Suci IA, Ngapa YD. Sintesis dan Karakterisasi Hidroksiapatit dari Cangkang Kerang Ale-Ale

- Menggunakan Metode Presipitasi Double Stirring. *Cakra Kim*. 2020;8(2):73–81.
13. Malcangi G, Patano A, Morolla R, De Santis M, Piras F, Settanni V, et al. Analysis of Dental Enamel Remineralization: A Systematic Review of Technique Comparisons. *Bioengineering*. 2023;10(4).
 14. Paro AD, Hossain M, Webster TJ, Su M. Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone. *Int J Nanomedicine*. 2016;11:4735–41.
 15. Puspitasari A, Adi P, Rubai DF. Pemanfaatan cangkang kerang darah (Anadara granosa) dalam remineralisasi gigi sulung. 2018;1(1):42–6.
 16. Prihartini Devitasari S, Hudiyati M, Anastasia D. Effect of hydroxyapatite from waste of tilapia bone (*Oreochromis niloticus*) on the surface hardness of enamel. *J Phys Conf Ser*. 2019;1246(1).
 17. Sidauruk SW, Rusdi RR, Sari IN. Aktivitas Antibakteri Hidroksiapatit Cangkang Kerang Kijing (*Pilsbryochoncha* sp.) terhadap Bakteri *Streptococcus* mutants. *Authentic Res Glob Fish Appl J*. 2024;6(2):159–66.
 18. Nimbeni SB, Nimbeni BS, Divakar DD. Role of chitosan in remineralization of enamel and dentin: A systematic review. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2021;14(4):562–8.
 19. Lembang MS, Cahyani RT, Nugraeni CD. Efektivitas Penambahan Nanokitosan dalam Pakan Terhadap Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *J Sumberd Akuatik Indopasifik*. 2023;7(1):93–102.
 20. Hutami WDW, Putri DKT, Carabelly AN, Kriswandini IL, Pratiwi AR, Luthfi M. The Antibacterial Activity of Chitosan from Haruan (*Channa striata*) Fish Scales on the Growth of *Streptococcus sanguinis*. *Indones Dent Assoc J Indones Dent Assoc*. 2020;3(2):5.
 21. Maulana NI, Aspriyanto D, Tri Putri DK, Wasiaturrahman Y, Diana S. Pengaruh Perendaman Gigi Desisui pada Larutan Kitosan Sisik Ikan Haruan (*Channa striata*) terhadap Pelepasan Ion Kalsium. *Dentin*. 2024;8(2):80–5.
 22. Balad DK, Tri Putri DK, Oktiani BW. Pengaruh Perendaman Kitosan Sisik Ikan Haruan (*Channa striata*) terhadap Struktur Email Gigi. *Dentin*. 2021;5(2):104–10.
 23. Fariz Asyraq MH, Tri Putri DK, Nurrahman T, Wardhana AS, Setiawan B. Pengaruh Perendaman Gigi pada Kitosan Sisik Ikan Haruan (*Channa striata*) terhadap Pelepasan Fosfat. *Dentin*. 2024;8(1):41–5.
 24. Wahyuda TW, Tri Putri DK, Nahzi MYI. Comparison of Antibacterial Chitosan of Haruan Fish Scales (*Channa striata*) with Chlorhexidine gluconate Against *Lactobacillus acidophilus*. *Dentin*. 2023;7(2):108–13.
 25. Rafi M, Anggundari WC, Irawadi TT. Potensi Spektroskopi FT-IR-ATR dan Kemometrik untuk Membedakan Rambut Babi, Kambing, dan Sapi. *Indo J Chem Sci*. 2016;5(3):229–34.
 26. Fadhilah R, Ardhe Gatera V, Sulfiani Saula L. Uji Kadar Formalin pada Tahu yang di Jual di Kabupaten Karawang dengan Metode Spektrofotometer Visible. *J Ilm Wahana Pendidik*. 2022;8(21):357–69.
 27. Rubio L, Su J, Martin-de-las-heras S. Partners in Postmortem Interval Estimation : X-ray Diffraction and Fourier Transform Spectroscopy. *Int J Mol Sci*. 2023;24(6793):1–13.
 28. Akın D, Atalayın Özkaya Ç, Meyer F, Enax J. Clinical Management of the White Spot Lesions After Vital Tooth Bleaching: A Case Report. *J Ege Univ Sch Dent*. 2023;44(3):265–9.
 29. Duraisamy R, Ganapathy D, Shanmugam R, Thangavelu L. Systematic Review on Hydroxyapatite and Chitosan Combination-coated Titanium Implants on Osseointegration. *World J Dent*. 2024;15(1):79–86.
 30. Rogina A, Ivanković M, Ivanković H. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite within chitosan matrix. *Mater Sci Eng C*. 2013;33(8):4539–44.
 31. Buzatu BLR, Buzatu R, Jumanca DE. Alternative methods in the treatment of white spot lesions. 2023;XXIX(4):458–64.
 32. Kusuma TM, Azalea M, Dianita PS, Syifa N. The Effect of The Variations in Type and Concentration of Gelling Agent To The Physical Properties of Hydrocortisone. *J Farm Sains dan Prakt*. 2018;IV(1):44–9.
 33. Michael PA, Dharmaraj P, Meenal R, Josh FT, Joseph JJ, Gerard K, et al. Penetration Estimation in SEM , EDAX Dental Imaging Systems for Desensitization Application. *Electronics*. 2022;11(3234).
 34. Salem KS, Kasera NK, Rahman MA, Jameel H, Habibi Y, Eichhorn SJ, et al. Comparison and assessment of methods for cellulose crystallinity determination. *Chem Soc Rev*. 2023;52(18):6417–46.
 35. Kallistová A, Skála R, Šlouf M, Čejchan P, Matulková I, Horáček I. Enamel apatite crystallinity significantly contributes to mammalian dental adaptations. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–9.
 36. Hasnil N, Ismail R, Bayuseno AP. Pengaruh Temperatur Sintering terhadap Karakterisasi Porous Hidroksiapatit Cangkang Kerang Hijau yang Dibuat Menggunakan Metode Polyurethane Sponge Replication. 2023;11(4):273–8.
 37. Kallistová A, Skála R, Šlouf M, Čejchan P, Matulková I, Horáček I. Enamel apatite crystallinity significantly contributes to mammalian dental adaptations. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–9.
 38. Koontongkaew S, Utispan K, Chawhuaveang DD, Yu OY. Enamel and Its Interaction with the Oral Environment. *Intech pen*. 2024;1–34.
 39. Wiryani M, Sujatmiko B, Bikarindasari R. Pengaruh lama aplikasi bahan remineralisasi casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate fluoride (CPP-ACPF) terhadap

- kekerasan email. *Maj Kedokt Gigi Indones.* 2016;2(3):141.
40. Ajani N, Indra Sukmana B, Erlita I. Pengaruh Sinar Radiasi Terhadap Kalsium Saliva Pada Radiografer Di Banjarmasin. *Dentin (Jur Ked Gigi).* 2019;3(1):29–34.
 41. Bolla V, Munnangi SR, Mg MK. Correlation between the PH of saliva , plaque and buffering capacity of saliva. 2017;3(4):48–50.
 42. Sudev S, Pooja V. Effect of Novel Etching System on Etch Pattern in Primary Teeth : An In Vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2025;18(9):1007.
 43. Leventouri T, Antonakos A, Kyriacou A, Venturelli R, Liarokapis E. Crystal Structure Studies of Human Dental Apatite as a Function of Age. *Int J Biomater.* 2009;1:1–17.
 44. Hagan KO, Joachim W, Frederic E, Bernhard M. The use of hydroxyapatite toothpaste to prevent dental caries. *Odontology.* 2022;110(2):223–30.
 45. 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. *Nat Publ Gr.* 2017;1(7):1–13.
 46. Jin B, Shao C, Wang Y, Mu Z, Liu Z, Tang R, et al. Anisotropic Epitaxial Behavior in Amorphous Phase Mediated Hydroxyapatite Crystallization Process : A New Understanding of Orientation Control. *J Phys Chem Lett.* 2019;24(10):7611–6.
 47. Lin C hsueh, Chen Y sheng, Huang W lun, Hung T chin, Wen T chin. Hydroxyapatite formation with the interface of chitin and chitosan. *J Taiwan Inst Chem Eng.* 2021;118(1):294–300.
 48. Qu S, Ma X, Yu S, Wang R. Chitosan as a biomaterial for the prevention and treatment of dental caries: antibacterial effect , biomimetic mineralization, and drug delivery. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023;11:1–11.
 49. Wang CP, Huang SB, Liu Y, Li JY, Yu HY. ScienceDirect The CPP-ACP relieved enamel erosion from a carbonated soft beverage : An in vitro AFM and XRD study. *Arch Oral Biol.* 2014;59(3):277–82.
 50. Endo K, Kogure T. Biomineralization. Nagasawa H, editor. Tokyo: Springer Open; 2018. 1–399 p.
 51. Gurunathan D, Somasundaram S, Kumar SA. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate : a remineralizing agent of enamel. 2012;3:404–8.
 52. Davari A, Daneshkazemi A, Shafiee F. Evaluating the Effects of Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate Paste and Nano-hydroxyapatite Solutions on the Re-mineralization of Synthetic Primary Caries in Enamel. *J Res Med Dent Sci.* 2019;7(2):62–9.
 53. Zhang YY, Wong HM, Mcgrath CPJ, Li QL. In vitro and in vivo evaluation of electrophoresis-aided casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralisation system on pH-cycling and acid- etching demineralised enamel. *Sci Rep.* 2018;1(8):1–9.