

**REMINERALISASI GIGI MENGGUNAKAN GEL DAUN
KELOR (*Moringa oleifera* L.) BERBASIS
NANOPARTIKEL: STUDI *IN VITRO***

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Guna Memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran Gigi**



Oleh:

IZZAH ANDINI PUTRI

2210070110088

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BAITURRAHMAH
PADANG**

2026

**REMINERALISASI GIGI MENGGUNAKAN GEL DAUN
KELOR (*Moringa oleifera* L.) BERBASIS
NANOPARTIKEL: STUDI *IN VITRO***

SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Guna Memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran Gigi**



Oleh:

IZZAH ANDINI PUTRI

2210070110088

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BAITURRAHMAH
PADANG**

2026

Halaman Pengesahan

SKRIPSI

**REMINERALISASI GIGI MENGGUNAKAN GEL DAUN
KELOR (*Moringa oleifera* L.) BERBASIS
NANOPARTIKEL: STUDI *IN VITRO***

Oleh:

**IZZAH ANDINI PUTRI
2210070110088**

**Telah dipertahankan di depan penguji pada tanggal 15 Januari 2026 dan
dinyatakan LULUS memenuhi syarat**

Susunan Tim Penguji Skripsi

- | | | | |
|----|--------------------------------------|---------|-------|
| 1. | drg. Wulan Anggestia, MSc | Ketua | |
| 2. | drg. Abu Bakar, M.Med.Ed., PhD | Anggota | |
| 3. | drg. Valendriyani Ningrum, MPH., PhD | Anggota | |

**Padang, 15 Januari 2026
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Baiturrahmah
Dekan,**

**Dr. drg. Yenita Alamsyah, M.Kes
NIDN. 1010107001**

Halaman Persembahan



“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”
(QS. Al-Baqarah: 286)

Alhamdulillahirobbil’alamin, dengan mengucap rasa syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan kemudahan dan pertolongan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Kepada diriku sendiri yang telah berjuang dan bertahan sejauh ini, Terima kasih karena tetap kuat, meski berkali-kali hampir menyerah. Semoga penulis menjadi pribadi yang selalu mau berusaha dan tidak lelah mencoba serta berjuang memberikan yang terbaik untuk masa depan.

Kepada *my superhero*, papa tersayang Eriandi. Terima kasih untuk setiap tetes keringat dan kerja keras demi penulis bisa berada di titik ini. Terima kasih untuk semua perhatian, kasih sayang dan cinta paling besar untuk anak bungsumu ini. Beliau memang tidak sempat merasakan bangku perkuliahan, tetapi beliau mampu mendidik penulis, memberikan semangat serta doa setiap harinya tiada henti hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Kepada pintu surgaku, mama tersayang Syafrida, M.Pd. Terima kasih atas cinta yang tak pernah lelah menguatkan, kesabaran yang tak pernah menuntut, serta doa yang selalu mengiringi setiap langkah penulis. Di balik setiap air mata dan kelelahan, doa mama menjadi kekuatan terbesar yang mengantarkan penulis hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.

Kepada kakak satu-satunya dr. Sri Muharni Sarah. Terima kasih selalu ada disisi penulis, setia mendengarkan keluh kesah dan tangisan, serta memberikan semangat setiap harinya. Kepada ponakan tersayang Arshad, terima kasih telah menjadi penghibur dikala penat dan lelah.

Kepada ketiga abangku Muhammad Hidayat, S.E, Rifan Erdianto, S.E, dan Danno Eriandi, S.E. Terima kasih atas doa dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis selama ini.

Kepada dosen pembimbing dan penguji, drg Wulan Anggestia,MSc, drg Abu Bakar, M.Med.Ed. PhD, drg Valendriyani Ningrum, MPH.,PhD. Terima kasih telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan, serta berbagi ilmu kepada penulis. Semoga Allah SWT membalas kebaikan bapak dan ibu dengan pahala yang berlipat ganda.

Kepada sahabat seperjuanganku Ramanda Dira Muzadila, Qotrunnada Amelia, Bungaida, Nurul Amalia, Mirda Annisa Putri dan Mutiah Dwi Arini. Penulis bersyukur kepada Allah SWT karena telah dipertemukan dengan sahabat-sahabat terbaik yang senantiasa hadir sejak masa awal perkuliahan hingga saat ini. Terima kasih telah tumbuh, berproses, dan berjuang bersama dalam setiap fase perkuliahan. Kebersamaan, tawa, tangis, serta dukungan yang kalian berikan bukan hanya menemani perjalanan akademik penulis, tetapi juga membentuk kenangan dan pelajaran hidup yang akan selalu penulis ingat dan syukuri sepanjang waktu.

Kepada Armanda Dimas Permadi yang tak kalah penting kehadirannya. Terima kasih selalu sabar menghadapi penulis dan menjadi tempat berkeluh kesah. Terima kasih atas semua dukungan, semangat, doa, dan selalu ada dalam suka maupun duka penulis selama proses penyusunan skripsi ini. Semoga diberikan kelancaran dan kemudahan dalam setiap langkah perjalanannya.

Kepada seluruh teman angkatan “incisivus 22”, terima kasih atas kebersamaan selama proses perkuliahan ini. Semoga kita semua dilancarkan hingga mencapai gelar drg.

Halaman Pernyataan Orisinalitas

Dengan ini, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Izzah Andini Putri
NPM : 2210070110088
Judul : REMINERALISASI GIGI MENGGUNAKAN GEL DAUN
KEJOR (*Moringa Oleifera L.*) BERBASIS NANOPARTIKEL:
STUDI *IN VITRO*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Padang, 15 Januari 2026
Yang Membuat Pernyataan

Izzah Andini Putri
2210070110088

KATA PENGANTAR



Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat, karunia, serta ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Remineralisasi Gigi Menggunakan Gel Daun Kelor (*Moringa Oleifera L.*) Berbasis Nanopartikel : *Studi In Vitro*” sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah.

Perkenankanlah saya mengucapkan terimakasih teristimewa serta penghargaan yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat ibu drg. Wulan Anggestia, M.Sc. selaku pembimbing serta terimakasih kepada kedua orang tua tercinta yang selalu memberi dukungan dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi ini.

Akhir kata, penulis berharap Allah SWT melimpahkan berkah-Nya kepada kita semua. Penulis dengan rendah hati menerima masukan dan saran guna penyempurnaan proposal penelitian skripsi ini.

Padang, 15 Januari 2026

Penulis

ABSTRAK

Demineralisasi merupakan proses hilangnya mineral kalsium dan fosfor dari permukaan enamel. Demineralisasi lebih lanjut dapat dicegah menggunakan agen remineralisasi. Seiring perkembangan teknologi, pemanfaatan bahan herbal berbasis nanopartikel menjadi alternatif yang menjanjikan. Daun kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan salah satu bahan herbal yang mengandung kalsium dan fosfor yang tinggi dan berpotensi meningkatkan remineralisasi enamel. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi tingkat remineralisasi enamel gigi setelah aplikasi gel daun kelor (*Moringa oleifera* L.) berbasis nanopartikel secara *in vitro*. Penelitian eksperimental laboratorium dengan desain *in vitro* ini menggunakan 24 gigi premolar permanen manusia yang dibagi menjadi empat kelompok, yaitu sodium fluoride (NaF), casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP-ACP), gel daun kelor berbasis nanopartikel, dan gel tanpa bahan aktif. Setelah proses demineralisasi, sampel diaplikasikan agen remineralisasi dan direndam dalam saliva buatan selama 7 hari. Evaluasi dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS) untuk menilai morfologi permukaan enamel serta rasio Ca/P. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan signifikan rasio Ca/P antar kelompok ($p = 0,009$). Uji *Post Hoc Tukey* menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara gel daun kelor berbasis nanopartikel dengan NaF dan CPP-ACP ($p > 0,05$), namun berbeda signifikan dibandingkan gel tanpa bahan aktif ($p < 0,05$). Disimpulkan bahwa gel daun kelor (*Moringa oleifera* L.) berbasis nanopartikel efektif meningkatkan remineralisasi enamel dengan efektivitas sebanding dengan agen remineralisasi konvensional.

Kata kunci: Remineralisasi enamel, gel daun kelor (*Moringa oleifera* L.), Nanopartikel, SEM-EDS.

ABSTRACT

Demineralization refers to the loss of calcium and phosphorus minerals from the enamel surface and may lead to further enamel damage if not properly managed. This process can be prevented through remineralization using appropriate agents. Recent technological advances have encouraged the development of herbal materials in nanoparticle formulations for dental applications. Moringa oleifera L. leaves contain high levels of calcium and phosphorus and have the potential to promote enamel remineralization. This study aimed to evaluate the enamel remineralization effect of nanoparticle-based Moringa oleifera L. leaf gel in vitro. An experimental laboratory study with an in vitro design was conducted using 24 permanent human premolar teeth, which were divided into four groups: sodium fluoride (NaF), casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP-ACP), nanoparticle-based Moringa oleifera leaf gel, and a gel without active ingredients as a negative control. Following demineralization, the samples were treated with remineralizing agents and immersed in artificial saliva for 7 days. Enamel surface morphology and Ca/P ratios were analyzed using Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS). One-way ANOVA showed a significant difference in Ca/P ratios among the groups ($p=0,009$). Post hoc Tukey analysis revealed no significant difference between the nanoparticle-based Moringa oleifera leaf gel and NaF or CPP-ACP ($p>0,05$), while a significant difference was observed compared with the negative control ($p<0,05$). In conclusion, nanoparticle-based Moringa oleifera L. leaf gel effectively enhances enamel remineralization with an effectiveness comparable to conventional remineralizing agents.

Keywords: Enamel remineralization, moringa leaf gel (*Moringa oleifera* L.), nanoparticles, SEM-EDS.

DAFTAR ISI

Halaman Sampul	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Halaman Persembahan.....	iii
Halaman Pernyataan Orisinalitas	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Bagi Peneliti	3
1.4.2 Bagi Insitusi	4
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Remineralisasi Gigi.....	5
2.1.1 Definisi Remineralisasi Gigi.....	5
2.1.2 Proses Remineralisasi Gigi	5
2.1.3 Agen Remineralisasi.....	6
2.2 Metode Evaluasi Remineralisasi Gigi In Vitro.....	7
2.2.1 Pemeriksaan Morfologi Enamel menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM).....	7
2.2.2 Pemeriksaan komposisi mineral enamel menggunakan Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)	8
2.2.3 Kelebihan Dan Kekurangan Scanning Electron Microscopy (SEM).....	9

2.2.4 Kelebihan Dan Kekurangan Energi Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)	9
2.3 Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	9
2.3.1 Pengertian Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	9
2.3.2 Klasifikasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	10
2.3.3 Kandungan Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	10
2.4 Gel	11
2.5 Nanopartikel	12
2.5.1 Definisi Nanopartikel	12
2.5.2 Kelebihan Nanopartikel	12
2.5.3 Metode Sintesis Nanopartikel	13
2.5.4 Karakterisasi Nanopartikel	14
2.6 Kerangka Teori	15
2.7 Kerangka Konsep	16
2.8 Hipotesis	16
BAB III METODE PENELITIAN	17
3.1 Jenis Penelitian	17
3.2 Populasi Penelitian	17
3.3 Sampel Penelitian	17
3.3.1 Kriteria Sampel	17
3.3.2 Besar Sampel	17
3.4 Variabel Penelitian	18
3.4.1 Variabel Bebas	18
3.4.2 Variabel Terikat	18
3.5 Definisi Operasional Variabel	19
3.6 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.6.1 Tempat Penelitian	20
3.6.2 Waktu Penelitian	20
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	21
3.8 Cara Kerja Penelitian	21
3.8.1 Pembuatan Surat Izin Penelitian dan <i>Ethical Clearance</i>	21
3.8.2 Identifikasi Tumbuhan Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	21

3.8.3 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	21
3.8.4 Pembuatan Nanopartikel Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.).....	22
3.8.5 Karakterisasi Nanopartikel Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.).....	22
3.8.6 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.)	23
3.8.7 Pembuatan Sediaan Gel Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.) Berbasis Nanopartikel	23
3.8.8 Pembuatan Larutan Saliva Buatan	24
3.8.9 Persiapan Sampel Gigi dan Aplikasi Agen Remineralisasi	25
3.8.10 Pemeriksaan Morfologi dan Komposisi Mineral Enamel.....	26
3.9 Alur Penelitian	27
3.10 Analisis Data.....	28
BAB 4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil Penelitian	29
4.1.1 Hasil Karakterisasi Ukuran Nanopartikel Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.).....	29
4.1.2 Hasil Pemeriksaan Morfologi Permukaan Enamel	30
4.1.3 Hasil Analisis Komposisi Mineral Enamel.....	32
4.2 Pembahasan	37
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1 Kesimpulan.....	42
5.2 Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Mineral dalam Daun Kelor (<i>Moringa oleifera L.</i>).....	11
Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel	19
Tabel 3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	21
Tabel 3.3 Komposisi Sediaan Gel.....	23
Tabel 3.4 Komposisi Larutan Saliva Buatan	24
Tabel 4.1 Ukuran Nanopartikel Daun Kelor (<i>Moringa oleifera L.</i>).....	30
Tabel 4.2 Nilai rata-rata persentase atomik (At%) Ca dan P serta rasio Ca/P masing-masing kelompok perlakuan.....	34
Tabel 4.3 Uji <i>Shapiro-Wilk Test</i>	35
Tabel 4.4 Uji <i>Levene</i>	35
Tabel 4.5 Uji <i>One Way ANOVA</i>	35
Tabel 4.6 Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema Proses Demineralisasi dan Remineralisasi Enamel Gigi	6
Gambar 2.2 Scanning Electron Microscopy (SEM).....	8
Gambar 2.3 Daun Kelor.....	10
Gambar 2.4 Metode Sintesis Nanopartikel	14
Gambar 2.5 Kerangka Teori	15
Gambar 2.6 Kerangka Konsep	16
Gambar 3.1 Alur Penelitian	27
Gambar 4.1 Distribusi ukuran nanopartikel daun kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.) berdasarkan analisis PSA	29
Gambar 4.2 Morfologi permukaan enamel setelah aplikasi NaF (Kelompok I) menunjukkan lapisan mineral (panah putih) serta porositas enamel (panah hitam).....	30
Gambar 4.3 Morfologi permukaan enamel setelah aplikasi CCP-ACP (Kelompok II) menunjukkan lapisan mineral (panah putih) serta prorsitas enamel (panah hitam)	31
Gambar 4.4 Morfologi permukaan enamel setelah aplikasi gel daun kelor (<i>Moringa oleifera</i> L.) berbasis nanopartikel (Kelompok III) menunjukkan lapisan mineral (panah putih) dan porositas enamel (panah hitam)	31
Gambar 4.5 Morfologi permukaan enamel setelah aplikasi gel tanpa bahan aktif (Kelompok IV) menunjukkan permukaan kasar, tidak beraturan dan porositas enamel (panah hitam)	32
Gambar 4.6 Rata-rata persentase atomik Ca dan P (At%) permukaan enamel setelah aplikasi agen remineralisasi berdasarkan analisis SEM-EDS (Mean $\pm$ SD)	33
Gambar 4.7 Rasio Ca/P (At%) permukaan enamel setelah aplikasi agen remineralisasi berdasarkan analisis SEM-EDS (Mean $\pm$ SD)	33

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies gigi termasuk dalam kategori masalah kesehatan global yang paling sering terjadi, meskipun sebenarnya dapat dicegah. Berdasarkan data dari World Health Organization (WHO) tahun 2022, diperkirakan sekitar 2 miliar penduduk dunia mengalami karies pada gigi permanen, sementara lebih dari 500 juta kasus karies ditemukan pada gigi sulung anak-anak (WHO, 2022). Di Indonesia, hasil Survei Kesehatan Indonesia 2023 menunjukkan bahwa karies gigi masih menjadi masalah utama, dialami oleh 43,6% populasi. Angka ini semakin mengkhawatirkan pada kelompok usia anak-anak, dengan prevalensi tertinggi 49,9% pada usia 5-9 tahun, 37,2% pada usia 10-14 tahun, serta masih tinggi pada usia dewasa muda 36% untuk 15-24 tahun dan 42,3% untuk 25-34 tahun. Di Sumatera Barat, kasus gigi berlubang bahkan mencapai 48,2%, lebih tinggi dari rata-rata nasional. Kondisi ini mendorong pencegahan karies gigi, mengingat kesehatan gigi dan mulut berdampak langsung pada kualitas hidup (Akküç *et al.* 2023).

Pencegahan karies umumnya dilakukan dengan penggunaan agen remineralisasi seperti sodium fluoride (NaF) dan casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate (CPP-ACP). Fluoride mampu menghambat demineralisasi dan membentuk kristal fluorapatit pada permukaan enamel, sehingga meningkatkan ketahanan terhadap asam (Flemming *et al.* 2022). Namun, efektivitas fluoride tidak sepenuhnya menghilangkan risiko terjadinya karies gigi terutama pada anak-anak (Akbarzade *et al.*, 2022). Sebaliknya CPP-ACP sebagai bahan remineralisasi mempunyai peningkatan mineral yang lebih tinggi dibandingkan dengan NaF dengan peningkatan densitas enamel setelah remineralisasi yang signifikan yakni rata-rata 10,9% (NaF), 12,3% (CPP-ACP) (Paquita *et al.*, 2023).

Seiring dengan kemajuan teknologi, pemanfaatan bahan herbal dalam kedokteran gigi terus berkembang, terutama penggunaan nanopartikel dalam formulasi agen remineralisasi (Yazdanian *et al.*, 2022). Nanopartikel memiliki

ukuran $<100\text{nm}$, partikel berukuran nano dapat menembus ke dalam pori-pori mikro enamel yang mengalami demineralisasi, sehingga meningkatkan efisiensi remineralisasi (Yazdanian *et al.*, 2022). Salah satu bahan alam yang potensial untuk dikembangkan adalah Daun kelor (*Moringa oleifera L.*), yang dikenal sebagai “Pohon Kehidupan” (*Tree of life*) karena memiliki nutrisi yang kaya terutama kandungan mineral (Srivastava *et al.*, 2023). Daun kelor mengandung mineral tertinggi yaitu kalsium (Ca) sebanyak $603,77\text{ mg}/100\text{ g}$ dan fosfor (P) sebesar $12,84\text{ mg}/100\text{ g}$, yang dalam konteks biologis merujuk pada bentuk ion fosfat (PO_4^{3-}) yang merupakan komponen pembentuk hidroksiapatit dan berperan penting dalam proses remineralisasi dan pembentukan jaringan keras gigi (Manggara & Shofi, 2018; Eliwa *et al.*, 2024). Selain mineral, daun kelor juga memiliki kandungan antibakteri yang dapat menghambat pembentukan bakteri penyebab karies, kandungan antioksidan dan antiinflamasi dalam daun kelor juga membantu pencegahan demineralisasi lebih lanjut (Younis *et al.*, 2020).

Berbagai agen remineralisasi konvensional telah dikembangkan dalam berbagai bentuk sediaan, seperti gel, varnish, foam dan pasta (Akbari *et al.*, 2021). Pada penelitian ini sediaan gel dipilih karena merupakan sediaan yang paling umum digunakan dan memiliki sejumlah keunggulan, antara lain stabilitas yang baik, rasa yang cukup nyaman, tidak menimbulkan iritasi pada gingiva, serta dapat disimpan dalam jangka waktu lama (Shabrina & Hartomo, 2020). Selain itu, gel juga memiliki kemampuan melepaskan bahan aktif dan berdifusi ke jaringan dengan efektif (Amalina *et al.*, 2021). Namun, hingga saat ini belum terdapat penelitian yang secara spesifik mengembangkan gel berbasis nanopartikel dari daun kelor untuk aplikasi remineralisasi enamel gigi secara *in vitro*. Untuk mengevaluasi remineralisasi enamel gigi, penelitian ini akan menggunakan *Scanning Electron Microscopy–Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (SEM-EDS). Metode ini memungkinkan analisis morfologi permukaan enamel sekaligus menentukan komposisi unsur, terutama rasio kalsium terhadap fosfat (Ca/P) sebagai indikator utama keberhasilan remineralisasi (Wani *et al.*, 2023).

Oleh karena itu, berdasarkan latar belakang di atas, peneliti ingin melakukan penelitian tentang Studi In Vitro Remineralisasi Gigi Menggunakan Gel Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*) Berbasis Nanopartikel yang bertujuan untuk mengevaluasi tingkat remineralisasi enamel gigi menggunakan gel daun kelor (*Moringa oleifera L.*) berbasis nanopartikel secara in vitro, sebagai alternatif alami, aman, dan potensial dalam pencegahan karies gigi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah di jelaskan, maka dapat dirumuskan masalah, yaitu bagaimana perubahan tingkat remineralisasi enamel gigi setelah aplikasi gel daun kelor (*Moringa oleifera L.*) berbasis nanopartikel?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi perubahan tingkat remineralisasi enamel gigi setelah aplikasi gel daun kelor (*Moringa oleifera L.*) berbasis nanopartikel.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui tingkat remineralisasi enamel gigi melalui perubahan morfologi dan komposisi mineral menggunakan *Scanning Electron Microscope-Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (SEM-EDS).
2. Untuk membandingkan tingkat remineralisasi enamel gigi yang dihasilkan oleh agen remineralisasi NaF, CCP-ACP, gel daun kelor (*Moringa oleifera L.*) berbasis nanopartikel, dan gel tanpa bahan aktif sebagai kontrol negatif.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi atau temuan ilmiah mengenai perubahan tingkat remineralisasi enamel gigi setelah aplikasi gel daun kelor (*Moringa oleifera L.*) berbasis nanopartikel.

1.4.2 Bagi Insitusi

1. Sebagai bahan masukan dan tambahan wawasan bagi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran gigi, khususnya penggunaan bahan herbal dalam pencegahan karies.
2. Sebagai alternatif agen remineralisasi yang bersifat alami, terjangkau dan efektif.

1.4.3 Bagi Masyarakat

1. Membuka peluang pemanfaatan sumber daya lokal (daun kelor) sehingga masyarakat mendapat manfaat kesehatan sekaligus nilai ekonomi.
2. Meningkatkan kualitas hidup dengan upaya pencegahan karies gigi melalui inovasi perawatan yang aman dan praktis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Remineralisasi Gigi

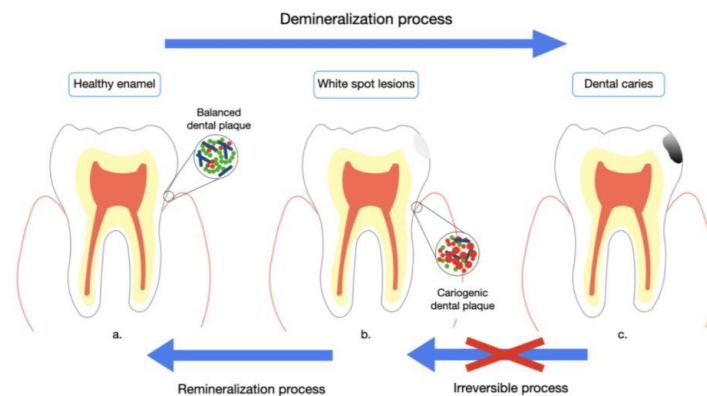
2.1.1 Definisi Remineralisasi Gigi

Remineralisasi merupakan suatu proses penambahan ion kalsium (Ca^{2+}) dan fosfat (PO_4^{3-}) yang berasal dari dalam maupun luar gigi guna meningkatkan lapisan mineral pada lapisan enamel yang telah kehilangan mineral akibat demineralisasi. Proses ini berperan dalam menyeimbangkan demineralisasi yang menyebabkan berkurangnya mineral pada enamel, sehingga dapat memperbaiki struktur pori-pori dan meningkatkan kekuatan enamel sekaligus mencegah terjadinya karies gigi (Megananda *et al.*, 2023). Remineralisasi dapat berlangsung secara alami atau dibantu dengan penggunaan agen remineralisasi seperti *fluoride*, *casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate* (CPP-ACP), serta senyawa lain yang mengandung kalsium (Paquita *et al.*, 2023).

2.1.2 Proses Remineralisasi Gigi

Proses demineralisasi dan remineralisasi enamel gigi merupakan fenomena dinamis yang berlangsung terus-menerus dalam rongga mulut. Demineralisasi dimulai ketika pH rongga mulut turun di bawah 5,5 akibat aktivitas bakteri kariogenik atau paparan makanan/minuman asam. Pada kondisi ini, kristal hidroksiapatit mulai larut karena menurunnya konsentrasi ion fosfat dalam saliva, sehingga enamel kehilangan mineral dan tampak sebagai lesi putih opak atau white spot lesion (WSL) (Malcangi *et al.*, 2023). Sebaliknya, ketika pH rongga mulut kembali normal (6,5–7,4), saliva yang bersifat supersaturasi dengan ion kalsium (Ca^{2+}) dan fosfat (PO_4^{3-}) dapat menetralkan asam sekaligus menyediakan mineral untuk proses remineralisasi. Ion-ion tersebut berdifusi ke dalam porositas enamel yang terbentuk akibat demineralisasi, lalu membangun kembali kristal hidroksiapatit yang larut. Dengan demikian, remineralisasi dapat terjadi secara alami tanpa penambahan agen eksternal, meskipun proses ini berjalan relatif lambat karena konsentrasi ion dalam saliva terbatas (Mona *et al.*, 2023).

Keseimbangan antara demineralisasi dan remineralisasi inilah yang menentukan kesehatan jaringan keras gigi. Jika remineralisasi lebih dominan, enamel dapat kembali mengeras dan tampak halus serta berkilau. Namun, apabila demineralisasi lebih dominan, lesi dapat berkembang menjadi kavitas yang bersifat irreversible (Malcangi *et al.*, 2023).



Gambar 2.1 Skema Proses Demineralisasi dan Remineralisasi Enamel Gigi
Sumber: (Malcangi *et al.*, 2023)

2.1.3 Agen Remineralisasi

1. NaF

Natrium Fluorida (NaF) dikenal sebagai salah satu agen remineralisasi yang paling efektif dan telah banyak diaplikasikan dalam pencegahan karies, khususnya pada tahap awal perkembangan karies atau initial caries. Pada tahap ini, karies ditandai dengan terjadinya demineralisasi pada enamel gigi tanpa terbentuknya kavitas yang tampak secara klinis. Proses kehilangan mineral tersebut dapat dihentikan atau dipulihkan melalui remineralisasi, salah satunya melalui penggunaan fluor. Fluor berperan dengan mengubah struktur kristal hidroksiapatit pada enamel menjadi kristal fluorapatit, yang memiliki sifat lebih stabil dan lebih tahan terhadap serangan asam, sehingga dapat memperkuat enamel dan mengurangi risiko terjadinya karies (Shabrina & Hartomo 2020).

Selain meningkatkan ketahanan enamel terhadap asam, fluor juga bekerja melalui mekanisme lain dalam mencegah karies. Fluor dapat memperbaiki kepadatan kristal gigi, mengisi kekosongan pada struktur kristal, serta menurunkan tingkat kelarutan enamel dalam lingkungan asam.

Di samping itu, fluor juga berfungsi menghambat aktivitas enzim bakteri penyebab karies seperti enolase, menghambat pertumbuhan mikroorganisme di rongga mulut, serta memberikan efek antibakteri yang dapat menurunkan produksi asam oleh bakteri penyebab karies, khususnya *Streptococcus mutans* (Shabrina & Hartomo 2020).

2. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP)

Casein Phosphopeptides-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) merupakan senyawa bioaktif yang berasal dari produk olahan susu, terdiri atas dua komponen utama yaitu Casein Phosphopeptides (CPP) dan Amorphous Calcium Phosphate (ACP). CPP adalah turunan dari protein susu casein yang berperan penting dalam menjaga stabilitas kalsium fosfat dalam larutan serta meningkatkan konsentrasi kalsium fosfat di area plak gigi. Kombinasi CPP-ACP bekerja dengan cara mengontrol aktivitas ion kalsium dan fosfat bebas sehingga membantu menjaga kondisi supersaturasi di sekitar permukaan enamel, menghambat proses demineralisasi, dan merangsang remineralisasi enamel. Ion kalsium dan fosfat yang dilepaskan dari kompleks ini akan masuk ke dalam enamel dan berperan dalam proses pembentukan ulang kristal apatite (Reema *et al.*, 2014).

CPP-ACP memiliki keunggulan dibandingkan NaF karena kandungan aktifnya mampu langsung menyuplai kalsium dan fosfat dalam bentuk amorf, sehingga proses remineralisasi dapat berlangsung lebih cepat hingga ke bagian dalam enamel. Sementara itu, efektivitas NaF sangat bergantung pada ketersediaan ion kalsium dan fosfat dari saliva di rongga mulut, sedangkan CPP-ACP sudah mengandung kedua unsur tersebut, sehingga mekanisme kerjanya menjadi lebih konsisten dan tidak tergantung lingkungan sekitar (Paquita *et al.*, 2023).

2.2 Metode Evaluasi Remineralisasi Gigi In Vitro

2.2.1 Pemeriksaan Morfologi Enamel menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah alat yang digunakan untuk mengamati permukaan enamel dengan perbesaran tinggi dan resolusi

mikroskopis. SEM menghasilkan citra permukaan tiga dimensi dari enamel, sehingga dapat menunjukkan perubahan struktur akibat perlakuan remineralisasi, seperti hilangnya struktur prismatic atau munculnya lapisan baru hasil deposisi mineral (Tosco *et al.*, 2023; Younis *et al.*, 2020).

Dalam studi Tosco *et al.* (2023), SEM digunakan untuk mengamati morfologi enamel setelah perlakuan remineralisasi menggunakan berbagai agen biomimetik. Lesi karies buatan yang awalnya menunjukkan permukaan kasar dan tidak beraturan, setelah perlakuan menunjukkan struktur permukaan yang lebih halus dan terisi, mengindikasikan proses remineralisasi yang berhasil.



Gambar 2.2 Scanning Electron Microscopy (SEM)
Sumber: (Sameeh, 2023)

2.2.2 Pemeriksaan komposisi mineral enamel menggunakan Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)

Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) merupakan teknik yang biasa digabungkan dengan SEM untuk menganalisis komposisi kimia dari permukaan sampel. Teknik ini mampu mengidentifikasi dan mengukur kadar unsur-unsur utama, seperti kalsium (Ca) dan fosfor (P), dalam jaringan keras gigi (Martinez-Mier *et al.*, 2019).

Pada penelitian Tosco *et al.* (2023), EDS digunakan untuk menghitung rasio Ca/P pada enamel yang mengalami remineralisasi. Hasil menunjukkan bahwa sampel yang dirawat dengan bahan biomimetik seperti CPP-ACP, Zn-hydroxyapatite, dan fluoride memiliki rasio Ca/P yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Rasio Ca/P merupakan indikator penting keberhasilan remineralisasi, karena mencerminkan keberadaan kembali kristal hidroksiapatit dalam jaringan enamel.

2.2.3 Kelebihan Dan Kekurangan Scanning Electron Microscopy (SEM)

Kelebihan SEM terletak pada kemampuan menghasilkan citra dengan pembesaran luas (20–30.000×), resolusi tinggi (50–100 nm), kedalaman bidang yang baik, serta analisis morfologi 3D secara detail (Relucenti *et al.*, 2021). Namun, SEM memiliki kekurangan berupa biaya investasi dan perawatan yang mahal, kebutuhan kondisi vakum yang dapat menyebabkan dehidrasi atau kerusakan sampel, serta perlunya pelapisan konduktif pada bahan non-konduktor untuk menghindari efek *charging* (Mohammed & Abdullah, 2018).

2.2.4 Kelebihan Dan Kekurangan Energi Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)

Penggabungan SEM dengan EDS memiliki kelebihan berupa kemampuan analisis unsur kimia secara kualitatif dan semi-kuantitatif, memungkinkan pemetaan distribusi unsur (*elemental mapping*), serta menghasilkan data komposisi dengan cepat melalui perangkat lunak analisis. Namun, EDS memiliki kekurangan karena memerlukan sampel yang harus dipoles dan disiapkan secara khusus, akurasi kuantitatif yang terbatas tanpa koreksi tambahan (Mohammed & Abdullah, 2018).

2.3 Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*)

2.3.1 Pengertian Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*)

Kelor merupakan tanaman yang dapat tumbuh di wilayah beriklim tropis. Tanaman ini mampu mencapai ketinggian hingga 11 meter dan dapat berkembang baik di dataran rendah maupun dataran tinggi hingga ketinggian 700 meter di atas permukaan laut. Tanaman kelor (*Moringa oleifera L.*) tidak memerlukan perawatan khusus karena memiliki ketahanan terhadap kondisi kering hingga enam bulan, sehingga mudah untuk dibudidayakan. Di Indonesia sendiri, kelor banyak ditemukan di berbagai daerah seperti Jawa, Bali, Sumatra, Madura, Bugis, dan wilayah lainnya (Sumiati *et al.*, 2021).



Gambar 2.3 Daun Kelor
Sumber: (Abdalla et al., 2022)

2.3.2 Klasifikasi Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Daun kelor memiliki klasifikasi taksonomi menurut Kharoliwal & Shrivastava (2024) yaitu sebagai berikut :

1. Kingdom : Plantae
2. Subkingdom : Tracheobionta
3. Superdivisi : Spermatophyta
4. Divisi : Magnoliophyta
5. Kelas : Magnoliopsida
6. Subkelas : Dilleniidae
7. Ordo : Capparales
8. Family : Moringaceae
9. Genus : *Moringa*
10. Spesies : *Oleifera*

2.3.3 Kandungan Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Daun kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan tanaman yang sering dijuluki sebagai “Pohon Kehidupan” (*Tree of life*) atau “Pohon Ajaib (*Miracle Tree*) karena hampir seluruh bagian tanamannya memiliki kandungan nutrisi yang sangat kaya, manfaat kesehatannya yang luas, dan efek positif terhadap lingkungan (Srivastava *et al.*, 2023). Daun kelor memiliki kandungan mineral, vitamin, fitokimia, antibakteri, antiinflamasi, antioksidan.

Kandungan mineral yang ada pada daun kelor sangat beragam, mulai dari yang tertinggi yaitu kandungan kalsium sebesar 603,77mg/100g dan fosfor

sebesar 12,84mg/100g (Manggara & Shofi, 2018). Menurut Lynch (2022), proses remineralisasi enamel berlangsung optimal ketika konsentrasi ion Ca^{2+} berada pada kisaran 40–100 mg/L dan PO_4^{3-} sekitar 30–70 mg/L, sehingga larutan mencapai kondisi supersaturasi terhadap hidroksiapatit.

Selain itu, mineral lain seperti magnesium (Mg^{2+}) berperan dalam tahap awal pembentukan kristal enamel, sedangkan stronsium (Sr^{2+}) dapat menggantikan sebagian kalsium untuk meningkatkan ketahanan enamel terhadap asam (Zhang *et al.*, 2023). Ion kalium (K^+) juga berperan dalam menjaga keseimbangan elektrolit dan pH saliva, yang mendukung lingkungan remineralisasi enamel secara tidak langsung langsung (Sultana *et al.*, 2020). Rincian kandungan mineral dalam daun kelor yang berperan dalam proses remineralisasi dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan Mineral dalam Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

No	Mineral	Kadar (mg/100 g)
1.	Ca (Kalsium)	603,77
2.	K (Kalium)	264,96
3.	P (Fosfor)	12,84
4.	S (Balerang)	23,45
5.	Fe (Besi)	20,49
6.	Cr (Kromium)	1,52
7.	Mn (Mangan)	2,68
8.	Cu (Tembaga)	7,59
9.	Zn (Seng)	2,87
10.	Ti (Titanium)	1,05
11.	Ni (Nikel)	22,60
12.	Mo (Molibdenum)	11,69
13.	Sr (Stronsium)	14,52
14.	Ba (Barium)	10,04
15.	Re (Renium)	13,62

2.4 Gel

Gel adalah sediaan semipadat yang terbentuk dari jaringan polimer tiga dimensi (*three-dimensional polymeric network*) yang mengimobilisasi fase cair, sehingga menghasilkan sistem koloid dengan konsistensi kental namun tetap mudah diaplikasikan. Struktur matriks polimer ini memberikan stabilitas fisik, viskositas tinggi, serta kemampuan menyebar yang baik. Gel umumnya bersifat transparan, *non-greasy*, dan mampu melepaskan bahan aktif secara terkontrol

pada permukaan jaringan (Bhuyan *et al.*, 2021). Dalam bidang kedokteran gigi, sediaan gel memiliki keunggulan antara lain lebih stabil, rasa yang cukup nyaman, tidak menimbulkan iritasi pada gingiva, serta dapat disimpan dalam jangka waktu lama (F. N. Shabrina & Hartomo, 2020). Selain itu, gel juga memiliki kemampuan melepaskan bahan aktif dan berdifusi ke jaringan dengan efektif, sehingga mendukung efektivitas terapi seperti remineralisasi enamel dan pencegahan karies (Amalina *et al.*, 2021).

2.5 Nanopartikel

2.5.1 Definisi Nanopartikel

Nanopartikel atau juga disebut partikel ultrafine adalah partikel materi berukuran 1-100 nanometer (nm) (Altammar, 2023). Pada skala ini, nanopartikel menunjukkan sifat unik dibandingkan material makro, seperti peningkatan luas permukaan serta karakteristik optik, magnetik, mekanik, dan kimia yang berbeda (Sameeh, 2023). Nanopartikel dapat berupa nanosfer, nanokapsul, atau nanopartikel hibrida, dan digunakan dalam berbagai aplikasi teknologi tinggi di bidang kedokteran, elektronik, dan lingkungan (Kumari *et al.*, 2023).

2.5.2 Kelebihan Nanopartikel

Kelebihan nanopartikel yaitu memiliki ukuran partikel yang sangat kecil sehingga menghasilkan rasio luas permukaan terhadap volume yang besar, yang menyebabkan peningkatan reaktivitas permukaan dan efisiensi dalam berbagai aplikasi (Sameeh, 2023). Sifat ini membuat nanopartikel sangat efektif dalam pengiriman obat, katalisis, serta aplikasi sebagai antimikroba dan sensor biologis (Altammar, 2023). Nanopartikel juga mampu menembus penghalang biologis dan berinteraksi pada tingkat seluler, menjadikannya penting dalam bidang biomedis dan terapeutik (Sameeh, 2023). Selain itu, kontrol terhadap ukuran dan bentuknya memungkinkan manipulasi sifat optik, magnetik, dan elektronik secara presisi (Kumari *et al.*, 2023).

2.5.3 Metode Sintesis Nanopartikel

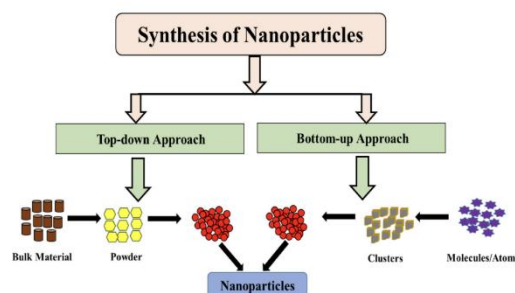
Sintesis nanopartikel merupakan tahap penting dalam nanoteknologi dan dibagi menjadi dua pendekatan utama, yaitu bottom-up dan top-down, yang keduanya dapat menggunakan metode fisika, kimia, maupun biologis, tergantung pada teknik yang diterapkan (Kumari *et al.*, 2023).

1. Pendekatan Bottom-Up

Pendekatan bottom-up melibatkan pembentukan nanopartikel dari satuan terkecil berupa atom atau molekul yang secara bertahap terorganisir membentuk struktur nano melalui proses self-assembly atau reaksi kimia (Altammar, 2023). Metode ini dapat dilakukan secara kimiawi, seperti presipitasi dan reduksi logam, atau secara biologis, seperti green synthesis menggunakan ekstrak tumbuhan atau mikroorganisme (Sameeh, 2023).

2. Pendekatan Top-Down

Pendekatan top-down menghasilkan nanopartikel dengan cara memecah material berukuran besar menjadi ukuran nano melalui proses fisik atau kimia seperti litografi, etching, atau penggilingan mekanik (Altammar, 2023). Metode ini umum digunakan di industri karena sederhana dan mampu memproduksi nanopartikel dalam jumlah besar. Salah satu teknik paling dikenal adalah High-Energy Ball Milling (HEBM), yang memanfaatkan energi mekanik dari tabrakan bola penggiling untuk mengecilkan ukuran partikel tanpa reaksi kimia (Kumari *et al.*, 2023). Keunggulannya meliputi biaya rendah, kompatibilitas dengan berbagai jenis material (logam, oksida, karbon), serta produksi skala besar, meskipun harus memperhatikan parameter proses agar kualitas nanopartikel tetap optimal (Kumari *et al.*, 2023). Pendekatan top-down, khususnya HEBM, tetap menjadi metode utama dalam sintesis nanopartikel di laboratorium maupun industri karena kesederhanaan dan efisiensinya (Altammar, 2023).



Gambar 2.4 Metode Sintesis Nanopartikel
Sumber: (Kumari et al., 2023).

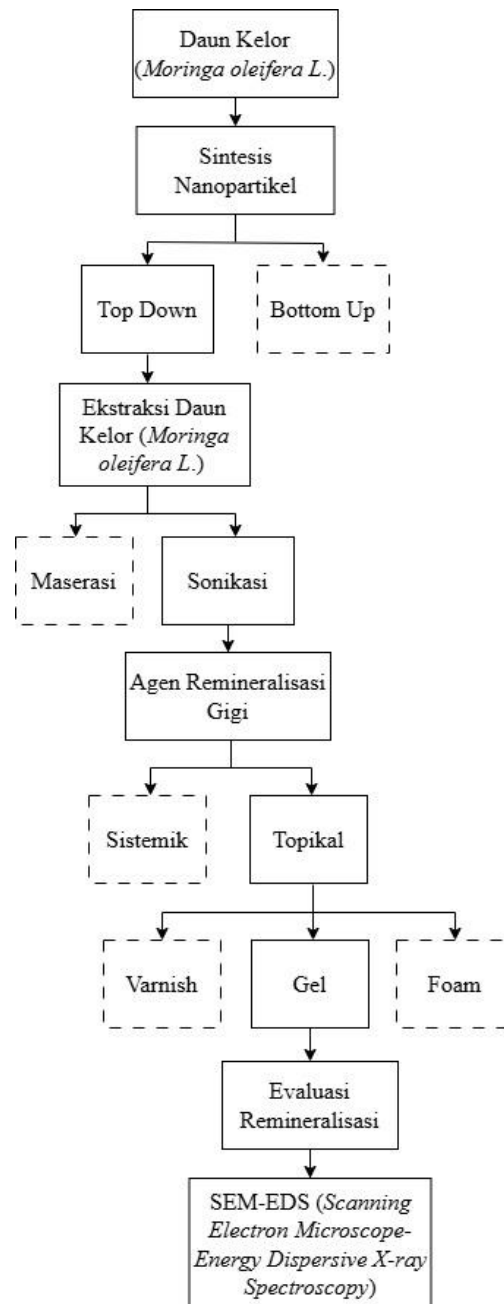
2.5.4 Karakterisasi Nanopartikel

Karakterisasi nanopartikel merupakan tahapan yang penting dalam mempelajari sifat fisik material pada skala nano, terutama yang berkaitan dengan ukuran partikel dan distribusi ukurannya. Salah satu teknik yang banyak digunakan untuk analisis tersebut adalah *Particle Size Analyzer* (PSA) yang bekerja berdasarkan prinsip *Dynamic Light Scattering* (DLS) (Stetefeld *et al.*, 2016). Metode ini memungkinkan penentuan ukuran partikel rata-rata serta tingkat keseragaman ukuran partikel dalam sistem dispersi cair.

Ukuran nanopartikel yang berada pada rentang 1–100 nm menyebabkan partikel tidak dapat diamati secara langsung menggunakan mikroskop optik konvensional. Oleh karena itu, penggunaan PSA menjadi pilihan yang tepat karena metode ini menganalisis ukuran partikel melalui hamburan cahaya akibat gerakan Brown partikel di dalam medium dispersi, yang selanjutnya dihitung sebagai ukuran hidrodinamik partikel (Stetefeld *et al.*, 2016).

PSA termasuk dalam metode karakterisasi fisik yang bersifat non-destruktif, karena proses pengukuran tidak melibatkan reaksi kimia maupun perubahan struktur partikel. Selain menentukan ukuran partikel rata-rata, metode ini juga menghasilkan nilai indeks polidispersitas (Polydispersity Index/PDI) yang digunakan untuk mengevaluasi keseragaman dan distribusi ukuran partikel. Nilai PDI yang rendah mengindikasikan distribusi ukuran partikel yang lebih homogen (Danaei *et al.*, 2018). Penerapan PSA dalam karakterisasi nanopartikel bertujuan untuk menilai keberhasilan proses sintesis, serta memastikan ukuran dan distribusi partikel yang dihasilkan memenuhi persyaratan untuk penggunaan atau aplikasi lebih lanjut (Stetefeld *et al.*, 2016).

2.6 Kerangka Teori



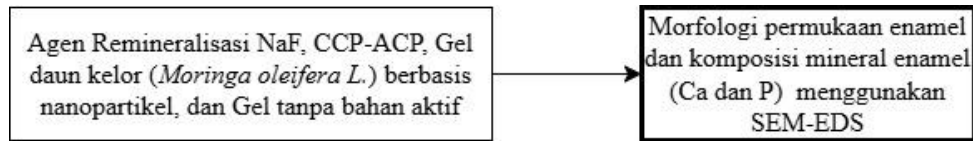
Keterangan :

: Diteliti

: Tidak Diteliti

Gambar 2.5 Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Keterangan :

: Variabel Bebas

: Variabel Terikat

Gambar 2.6 Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini :

1. Ho :

Tidak Terdapat perbedaan yang signifikan pada morfologi permukaan enamel dan komposisi mineral (Ca dan P) antara kelompok yang diberi perlakuan dengan berbagai agen remineralisasi dan kelompok kontrol (tanpa bahan aktif).

2. Ha :

Terdapat perbedaan yang signifikan pada morfologi permukaan enamel dan komposisi mineral (Ca dan P) antara kelompok yang diberi perlakuan dengan berbagai agen remineralisasi dan kelompok kontrol (tanpa bahan aktif).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental di laboratorium secara *in vitro*.

3.2 Populasi Penelitian

Populasi yang diambil dari penelitian ini adalah gigi premolar permanen manusia sehat yang dicabut untuk alasan periodontal atau ortodontik.

3.3 Sampel Penelitian

3.3.1 Kriteria Sampel

1. Kriteria Inklusi dalam penelitian ini adalah :

Gigi premolar permanen manusia sehat yang dicabut untuk alasan periodontal atau ortodontik.

2. Kriteria Eksklusi dalam penelitian ini adalah :

Gigi dengan karies, deformitas, retakan, fraktur, restorasi, abrasi, anomali perkembangan, bintik putih, dan noda.

3.3.2 Besar Sampel

Sampel akan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu :

1. Kelompok I : Agen remineralisasi NaF
2. Kelompok II : Agen remineralisasi CCP-ACP
3. Kelompok III Agen remineralisasi Gel Daun kelor (*Moringa oleifera L.*) Berbasis Nanopartikel
4. Kelompok IV : Gel tanpa bahan aktif

Menentukan besar sampel minimal dalam penelitian ini sudah diestimasikan berdasarkan rumus Federer (Federer, 1995) :

$$(t - 1)(n - 1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan dalam penelitian

n = banyaknya pengulangan

Jadi perlakuannya adalah (t) = 4

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(4-1)(n-1) \geq 15$$

$$3(n-1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 15 + 3$$

$$3n \geq 18$$

$$N \geq 6$$

Berdasarkan jumlah perhitungan dengan rumus Federer diatas, jumlah pengulangan adalah 6. Total kelompok yang digunakan adalah $4 \times 6 = 24$ kelompok perlakuan.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Agen remineralisasi NaF, CCP-ACP, Gel daun kelor (*Moringa oleifera* L.) Berbasis Nanopartikel, dan Gel tanpa bahan aktif sebagai kontrol negatif.

3.4.2 Variabel Terikat

Morfologi permukaan enamel dan komposisi mineral enamel (Ca dan P) menggunakan *Scanning Electron Microscope- Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (SEM-EDS)

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Agen remineralisasi	Bahan yang digunakan untuk membantu proses remineralisasi enamel gigi.	Jenis Perlakuan	Perlakuan dibagi menjadi 4 kelompok: 1. NaF 2. CPP-ACP 3. Gel daun kelor berbasis nanopartikel 4. Gel tanpa bahan aktif.	Ordinal
2.	Morfologi permukaan enamel	Gambaran permukaan enamel setelah perlakuan demineralisasi dan agen Remineralisasi.	Scanning Electron Microscope (SEM)	Deskripsi visual citra mikroskopis permukaan enamel	Nominal
3.	Komposisi mineral (Ca dan P)	Persentase kandungan mineral Ca dan P pada permukaan enamel hasil perlakuan remineralisasi.	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)	Nilai persentase atomik (At%) rasio Ca/P	Rasio

[illegible]

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

Tabel 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

No	Alat	No	Bahan
1.	Timbangan analitik	1.	Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)
2.	Mixer grinder	2.	Kantong ziplock
3.	Spatula	3.	Kertas saring Whatman No. 1
4.	High Energi Ball Milling (HEBM)	4.	Etanol 96%
5.	Scanning Electron Microscope (SEM)	5.	Polyvinyl acetate (PVA)
6.	Oven	6.	Carboxymethyl Cellulose (CMC)
7.	Rotary vacuum evaporator	7.	Asam fosfat 37%
8.	Ultrasonic Cleaner	8.	Propilengkilol
9.	Magnetic stirrer	9.	Natrium klorida (NaCl)
10.	Gelas beaker	10.	Kalium klorida (KCl)
11.	pH meter	11.	Kalsium klorida dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
12.	Inkubator 37°C	12.	Urea
13.	Microbrush	13.	Aquadest
14.	Energi Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS)	14.	Gliserin
15.	Particle Size Analyzer (PSA)	15.	Blok lilin
16.	Alat potong gigi (diamond disc/cutter)	16.	Asam Sitrat
17.	Timer	17.	Metil Paraben
18.	Wadah steril		
19.	Gelas ukur		

3.8 Cara Kerja Penelitian

3.8.1 Pembuatan Surat Izin Penelitian dan *Ethical Clearance*

3.8.2 Identifikasi Tumbuhan Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Pengambilan sampel tumbuhan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) sebagai bahan uji yang berada di Jl. Tabek Batu Aie Pacah, Koto Tangah, Padang, Sumatra Barat. Kemudian dilakukan identifikasi tumbuhan daun kelor (*Moringa oleifera* L.) di laboratorium Herbarium Universitas Andalas.

3.8.3 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

1. Daun kelor segar dicuci dan disortasi.
2. Daun kelor dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

3. Setelah kering, daun kelor disortasi kembali.
4. Daun kelor dihaluskan dengan menggunakan grinder sehingga diperoleh serbuk simplisia.

3.8.4 Pembuatan Nanopartikel Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Pembuatan nanopartikel daun kelor dilakukan dengan metode High Energy Ball Milling (HEBM) menggunakan pendekatan top-down (Aman *et al.*, 2018) dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Sebanyak 15 gram serbuk daun kelor dimasukkan ke dalam vial stainless steel berkapasitas 30 mL.
2. Bola baja stainless steel sebanyak 15 gram ditambahkan ke dalam vial.
3. Kemudian ditutup rapat dan dipasang pada alat High Energy Ball Mill (HEBM) tipe Retsch Emax (Germany).
4. Proses milling dilakukan pada kecepatan 500 rpm selama 5 jam.
5. Selama milling berlangsung, arah rotasi diubah setiap 30 menit untuk menghasilkan distribusi tumbukan yang merata.
6. Setelah milling selesai, sampel dikeluarkan dari vial dan disimpan dalam kantong ziplock steril.
7. Sampel disimpan pada suhu ruang dan terlindung dari paparan cahaya langsung hingga digunakan dalam tahap karakterisasi dan formulasi sediaan.

3.8.5 Karakterisasi Nanopartikel Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Karakterisasi ukuran partikel dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Timbang 0,1 gram serbuk daun kelor ke dalam gelas beaker.
2. Tambahkan 100 mL aquadest, kemudian campuran disonikasi menggunakan sonikator bath selama 5-10 menit untuk memecah aglomerasi.
3. Sampel dimasukkan ke dalam cuvette PSA yang bersih dan kering
4. Pengukuran dilakukan menggunakan PSA pada suhu ruang, dengan lima kali pengulangan untuk memperoleh hasil yang lebih akurat.

5. Kemudian amati ukuran partikel rata-rata dan indeks polidispersitas yang digunakan untuk menilai distribusi dan keseragaman ukuran partikel daun kelor.

3.8.6 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*)

Pembuatan ekstrak daun kelor dilakukan menggunakan metode ultrasonik (Rifkia & Revina, 2023) dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Masukkan serbuk simplisia dan pelarut etanol ke dalam gelas beaker dengan perbandingan 1:20.
2. Letakkan gelas beaker pada alat ultrasonik dan magnetic stirrer.
3. Kemudian ekstraksi selama 30 menit pada suhu 30°C.
4. Ulangi proses ekstraksi sebanyak 3 kali.
5. Setelah mendapatkan ekstrak, saring hasil ekstrak menggunakan kertas saring.
6. Kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

3.8.7 Pembuatan Sediaan Gel Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*) Berbasis Nanopartikel

Pembuatan sediaan gel daun kelor berbasis nanopartikel dengan bahan-bahan sebagai berikut :

Tabel 3.3 Komposisi Sediaan Gel

No	Bahan	Konsentrasi%
1	Polyvinyl acetate (PVA)	10%
2	Carboxymethyl Cellulose (CMC)	6%
3	Asam Sitrat	2%
4	Propilengkilol	2%
5	Gliserin	2%
6	Metil Paraben	0,3%

1. Timbang semua bahan sesuai komposisi pada tabel.
2. Larutkan PVA 10% dengan aquadest ke dalam gelas beaker dan aduk menggunakan magnetic stirrer pada temperatur 80°C hingga homogen, dianggap sebagai campuran 1.

3. Larutkan CMC 6% dengan aquadest ke dalam gelas beaker dan aduk menggunakan magnetic stirrer hingga homogen, dianggap sebagai campuran 2.
4. Aduk campuran 1 dan 2 sampai homogen, dihasilkan gelling agent.
5. Larutkan asam sitrat 2%, propilenglikol 2%, gliserin 2%, dan metil paraben 0,3% dengan aquadest ke dalam gelas beaker dan aduk.
6. Setelah larut, campurkan larutan dengan gelling agent, aduk hingga homogen.
7. Tambahkan ekstrak daun kelor dengan konsentrasi 15% ke dalam campuran (Sundu *et al.*, 2023) hingga homogen.
8. Tutup rapat, kemudian keringkan menggunakan oven pada suhu 45°C selama 7 jam.
9. Simpan dalam wadah steril.

3.8.8 Pembuatan Larutan Saliva Buatan

Pembuatan larutan saliva dilakukan sesuai dengan metode yang digunakan oleh Ali *et al.* (2024) dengan komposisi sebagai berikut :

Tabel 3.4 Komposisi Larutan Saliva Buatan

No	Bahan	Konsentrasi (g/L)
1	Natrium klorida (NaCl)	0,40
2	Kalium klorida (KCl)	0,40
3	Kalsium klorida dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,80
4	Urea	1,00

1. Timbang semua bahan sesuai komposisi pada tabel.
2. Larutkan NaCl, KCl, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan urea ke dalam aquadest hingga volume 1 liter.
3. Aduk sampai homogen menggunakan magnetic stirrer.
4. Ukur pH menggunakan pH meter, dan pastikan pH berada dalam kisaran fisiologis saliva yaitu $\pm 6,5-7,5$.

3.8.9 Persiapan Sampel Gigi dan Aplikasi Agen Remineralisasi

1. Pada permukaan labial tiap gigi, dibuat dua sisi menggunakan pena korektor cair putih:
 - a. sisi kanan sebagai kontrol: tidak diberi etsa dan tidak diberi perlakuan.
 - a. sisi kiri sebagai area perlakuan: mengalami demineralisasi dan aplikasi bahan uji (Younis *et al.*, 2020).
 - b. Sampel pada sisi kiri dietsa menggunakan larutan asam fosfat 37% selama 30 detik kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan (Younis *et al.*, 2020).
2. Kemudian sebanyak 24 gigi premolar dibagi menjadi 6 sampel perkelompok dengan perlakuan berbeda untuk sisi kiri sebagai berikut:
 - c. Kelompok I: diberikan perlakuan dengan cara mengoleskan NaF pada sisi kiri menggunakan microbrush dan didiamkan selama 10 menit sebelum direndam dengan larutan saliva buatan (Younis *et al.*, 2020).
 - d. Kelompok II: diberikan perlakuan dengan cara mengoleskan CCP-ACP GC (*Tooth Mousse*) pada sisi kiri menggunakan microbrush selama 4 menit sebelum direndam dengan larutan saliva buatan (Paquita *et al.*, 2023).
 - e. Kelompok III: diberikan perlakuan dengan cara mengoleskan gel daun kelor (*Moringa oleifera*) selama 5 menit menggunakan microbrush dan dibiarkan menempel dan mengering pada suhu ruang sebelum direndam dengan larutan saliva buatan (Younis *et al.*, 2020).
 - f. Kelompok IV: diberikan perlakuan dengan cara mengoleskan gel tanpa bahan aktif selama 5 menit menggunakan microbrush dan dibiarkan menempel dan mengering pada suhu ruang sebelum direndam dengan larutan saliva buatan (Younis *et al.*, 2020).
3. Gigi pada masing-masing dari lima kelompok difiksasi secara vertikal ke dalam blok lilin untuk menjaga posisi tetap stabil selama perendaman.

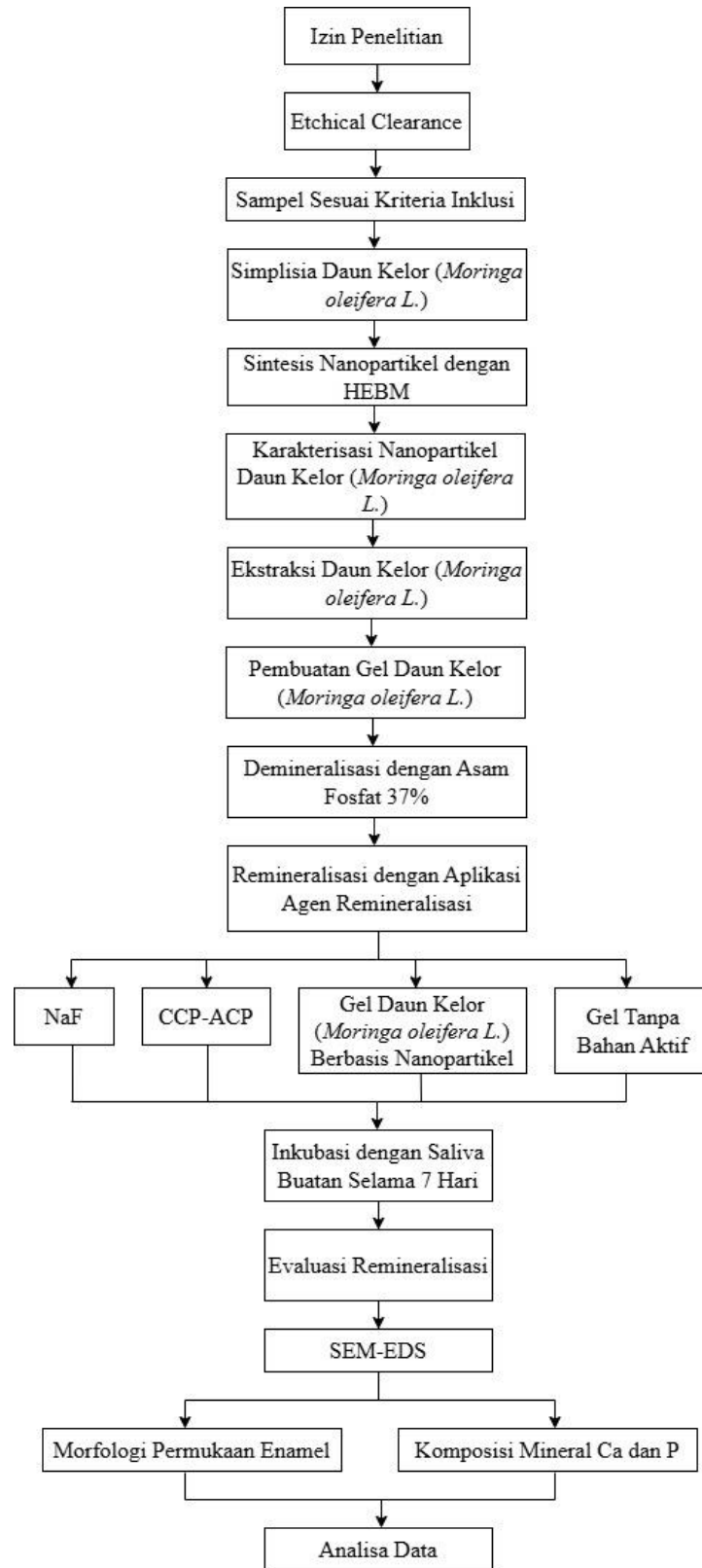
4. Setiap kelompok gigi dimasukkan secara terpisah ke dalam wadah berisi larutan saliva buatan.
5. Wadah ditutup rapat, kemudian seluruh sampel diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 7 hari (Mehta *et al.*, 2013)
6. Masa inkubasi selesai, blok lilin dikeluarkan dari larutan, lalu sampel gigi dicuci dengan aquadest secara hati-hati untuk menghilangkan sisa saliva buatan.

3.8.10 Pemeriksaan Morfologi dan Komposisi Mineral Enamel

Pemeriksaan morfologi permukaan dan komposisi mineral enamel setelah perlakuan remineralisasi dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang dilengkapi dengan *Energy Dispersive X-ray Spectroscopy* (EDS) (Wani *et al.*, 2023) dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Sampel gigi dipotong pada bagian akar.
2. Sampel gigi diletakkan pada stub aluminium yang telah dilapisi dengan pita karbon konduktif dengan permukaan labial enamel menghadap ke atas.
3. Pengamatan dilakukan menggunakan SEM dengan pembesaran hingga 8000x untuk menilai perubahan morfologi permukaan enamel.
4. Analisis EDS dilakukan pada area yang sama untuk menentukan kandungan mineral kalsium (Ca) dan fosfor (P). Hasil analisis digunakan untuk menghitung rasio Ca/P sebagai indikator utama tingkat remineralisasi enamel.
5. Setiap sampel dianalisis, kemudian nilai rasio Ca/P dirata-ratakan untuk menggambarkan kondisi umum kandungan mineral pada permukaan enamel.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3.10 Analisis Data

Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji *One Way ANOVA* dan uji *Post-hoc Tukey* jika data berdistribusi normal, dengan signifikansi $p < 0,05$. Tetapi jika data penelitian yang didapat tidak berdistribusi normal, maka uji statistik yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan rasio Ca/P antara kelompok perlakuan dengan signifikansi $P < 0,05$.