

## Kesan Penambahan Nanohidroksiapatit ke dalam Simen Ionomer Kaca terhadap Morfologi dan Sifat Biologi Bahan

(Effects of Incorporating Nanohydroxyapatite into Glass Ionomer Cement towards the Morphology and Biological Properties of the Material)

RISHNNIA MURUGAN<sup>1</sup>, NUR NAJMI MOHAMAD ANUAR<sup>1</sup>, NURRUL SHAQINAH NASRUDDIN<sup>2</sup> & FARINAWATI YAZID<sup>3,\*</sup>

<sup>1</sup>Program Sains Bioperubatan, Pusat Pengajian Toksikologi & Risiko Kesihatan, Fakulti Sains Kesihatan, Universiti Kebangsaan Malaysia, 50300 Kuala Lumpur, Malaysia

<sup>2</sup>Jabatan Diagnostik Kraniofasial dan Biosains, Fakulti Pergigian, Universiti Kebangsaan Malaysia, 50300 Kuala Lumpur, Malaysia

<sup>3</sup>Jabatan Kesihatan Pergigian Keluarga, Fakulti Pergigian, Universiti Kebangsaan Malaysia, 50300 Kuala Lumpur, Malaysia

Diserahkan: 12 Jun 2023/Diterima: 10 Oktober 2023

### ABSTRAK

Simen kaca ionomer merupakan bahan pemulih yang digunakan secara meluas dalam bidang pergigian. Namun, ia mempunyai beberapa kelemahan yang menghadkan penggunaannya sebagai bahan restoratif. Nanohidroksiapatit (nHA) adalah bahan tambahan yang digunakan dalam simen kaca ionomer bagi mengatasi kelemahannya. Penyelidikan ini bertujuan untuk mengkaji kesan penambahan nHA ke dalam simen kaca ionomer terhadap morfologi dan sifat biologi bahan melalui pemerhatian mikroskop imbasan elektron (SEM), ujian kesitotoksikan dan antibakteria. Bagi kesitotoksikan nHA terhadap sel MC3T3-E1, sebanyak empat peratus kepekatan nHA yang berbeza digunakan dalam asai MTT iaitu 0%, 3%, 4% dan 5% selama 24 dan 48 jam. Hasilnya, kesemua kepekatan nHA yang digunakan tidak menunjukkan kesan sitotoksik terhadap sel MC3T3-E1 dengan 4% nHA merekodkan keviabelan sel yang tinggi pada 24 dan 48 jam. Ujian antibakteria terhadap bakteria *Streptococcus mutans* dilakukan dengan ujian cakera difusi bagi tempoh 24 jam menunjukkan bahawa sampel yang ditambah dengan 4% nHA mempunyai sifat antibakteria yang lebih baik dengan merekodkan saiz zon perencatan yang besar berbanding dengan sampel simen kaca ionomer sahaja. Berdasarkan pemerhatian morfologi SEM, rekahan dan zarah nHA yang berbentuk bulat dapat dilihat pada simen yang ditambah dengan 4% nHA. Bagi analisis Serakan Tenaga Sinar-X (EDX), penambahan 4% nHA meningkatkan peratusan unsur atom kalsium, aluminium, silikon, fosforus dan fluorin. Penggabungan 4% nHA ke dalam simen kaca ionomer menyerlahkan morfologi simen dan meningkatkan sifat biologinya, justeru, ia sesuai digunakan sebagai bahan tambahan dalam simen kaca ionomer.

Kata kunci: Antibakteria; kesitotoksikan; morfologi; nanohidroksiapatit; simen kaca ionomer

### ABSTRACT

Glass ionomer cement (GIC) is widely used in clinical dentistry as a restorative material. However, GIC possesses some weakness that limits its usage. Nanohydroxyapatite (nHA) is an additive used in GIC to improve its properties. This study aims to determine the effects of incorporating nHA into GIC on the morphology and biological properties of the material through scanning electron microscopy (SEM), cytotoxicity and antibacterial. For the cytotoxicity of nHA towards MC3T3-E1 cells, four different concentrations of nHA were used in the MTT assay, namely 0%, 3%, 4% and 5% for 24 and 48 h. Based on the results, all the concentrations of nHA used did not show cytotoxic effects on cells in which GIC with 4% nHA showed the highest viability at both 24 and 48 h. The antibacterial property of 4% nHA incorporated GIC against *Streptococcus mutans* bacteria was determined using a disk diffusion test for 24 h showing that GIC with a 4% nHA sample had greater antibacterial properties with a bigger inhibition zone size compared to

GIC only sample. The SEM morphology analysis showed higher number of cracks and spherical nHA particles on the surface of GIC with 4% nHA sample. In Energy Dispersive X-ray analysis, GIC with 4% nHA samples showed an increased atomic percentage of elements calcium, aluminium, silicone, fluorine and phosphorus compared to GIC only sample. The incorporation of 4% nHA into GIC has enhanced the cement morphology and biological properties, thus it is suitable to be used as an additive in GIC.

Keywords: Antibacterial; cytotoxicity; glass ionomer cement; morphology nanohydroxyapatite

## PENGENALAN

Teknik penampalan gigi merupakan prosedur yang digunakan secara meluas dalam bidang pergigian. Teknik ini digunakan untuk merawat kaviti dan gigi yang berlubang. Terdapat pelbagai jenis bahan tampalan sedia ada untuk prosedur ini dan simen kaca ionomer atau lebih dikenali sebagai *Glass Ionomer Cement* (GIC) merupakan bahan tampalan yang biasa digunakan. Simen kaca ionomer yang dicipta oleh Wilson dan Kent pada tahun 1971 (Upadhy & Kishore 2005) telah digunakan sekian lama dalam bidang pergigian sebagai bahan tampalan. Simen kaca ionomer juga merupakan pilihan popular bahan tampalan dalam rawatan pemulihan atraumatik yang merupakan rawatan yang kurang invasif dan digunakan pada pesakit yang kurang patuh kepada prosedur tampalan (Souza-Zaroni et al. 2006). Tampalan dengan menggunakan simen kaca ionomer menggalakkan proses pemulihan yang membolehkan pulpa dentin untuk bertindak balas terhadap karies (Molina et al. 2013). Simen kaca ionomer tergolong dalam kelas simen asid-bes yang terdiri daripada tiga komponen yang utama iaitu, asid polimerik yang larut air, kaca alkali dan air (Sidhu & Nicholson 2016).

Simen kaca ionomer mempunyai ciri yang baik dan bersesuaian untuk digunakan sebagai bahan tampalan. Bahan tampalan ini terkenal dengan penggunaannya yang mudah, sifat ikatan yang kuat pada gigi (Davidson 2006), sifat pelepasan ion fluorida yang tinggi (Alatawi, Elsayed & Mohamed 2019), pekali pengembangan haba yang rendah (Alobiedy, Al-Helli & Al-Hamaoy 2019) dan ketahanan sifat fizikal yang mencukupi untuk mengunyah (Lucas, Arita & Nishino 2003). Walau bagaimanapun, simen kaca ionomer mempunyai beberapa kelemahan yang mengehadkan penggunaannya sebagai bahan tampalan pada kawasan yang mempunyai tekanan yang tinggi seperti di bahagian belakang gigi. Antara kelemahan simen kaca ionomer adalah, sifat mekanikal yang rendah, kerapuhan dan kekuatan tegangan yang rendah (Garoushi et al. 2018).

Untuk mengatasi kelemahan pada simen kaca ionomer, bahan tambah yang khusus boleh ditambahkan ke dalam

simen kaca ionomer bagi tujuan menambahbaik sifatnya. Salah satu bahan tambahan yang popular digunakan adalah nanohidroksiapatit. Nanohidroksiapatit merupakan hidroksiapatit versi sintetik yang merupakan sebatian kalsium fosforus (Rosenbach et al. 2007) yang boleh didapati secara semula jadi dalam tubuh manusia yang juga boleh ditemui pada tulang ikan, kulit telur dan batu karang (Chetty et al. 2012; Nur Atmaliya et al. 2022). Nanohidroksiapatit berpotensi untuk menambah baik sifat dan kelemahan simen kaca ionomer. Namun, kajian mengenai ciri biologinya seperti kesitotoksikan, antibakteria dan morfologi simen masih tidak mencukupi. Oleh itu, kajian ini bertujuan untuk menentukan kesan penggabungan nanohidroksiapatit ke dalam simen kaca ionomer terhadap morfologi dan sifat biologi bahan.

## BAHAN DAN KAEDAH

### UJIAN KESITOTOKSIKAN

#### *Penyediaan Sampel Simen Kaca Ionomer*

Sampel simen kaca ionomer dihasilkan dengan empat peratusan kepekatan nanohidroksiapatit (nHA) yang berbeza iaitu, 0% (simen kaca ionomer sahaja), 3%, 4% dan 5%. Berdasarkan kajian oleh Moshaverinia et al. (2008), peratusan berat 2% nanohidroksiapatit yang ditambah ke dalam simen ionomer kaca menunjukkan peningkatan dari segi sifat mekanikal dan fizikalnya. Peratusan berat 3%, 4% dan 5% jarang diuji dalam kajian. Justeru, peratusan berat 3%, 4% dan 5% nanohidroksiapatit telah dipilih untuk diuji dalam kajian ini. Nisbah serbuk gelas, serbuk asid poliakrilik dan air yang digunakan adalah sebanyak 3:1:1. Simen kaca ionomer dengan 0% nHA dihasilkan dengan mencampurkan 3 g serbuk gelas, 1 g serbuk asid poliakrilik dan 1 mL air. Serbuk gelas, nHA, asid poliakrilik dan air dicampurkan dengan spatula selama 60 saat dan dituangkan ke dalam acuan silikon yang bersaiz 5×5 mm. Campuran simen dibiarkan untuk kering selama 5 minit. Kemudian, simen tersebut dikeluarkan daripada acuan dan sedia untuk penggunaan uji kaji.

### *Prosedur Subkultur Sel MC3T3-E1*

Sel MC3T3-E1 yang berasal daripada tikus telah digunakan bagi ujian kesitotoksikan. Sel MC3T3-E1 diperolehi daripada *American Type Culture Collection* (ATCC No: CRL-2594TM). Sel MC3T3-E1 dengan pasaj 25, 26, 27, 28 dan 29 dikulturkan dalam media *Alpha Minimum Essential* ( $\alpha$ MEM) (Gibco, USA). Pengsubkultur dilakukan selepas sel mencapai 80% konfluensi. Kaedah subkultur dilakukan berdasarkan Rohaya et al. (2020). Secara ringkasnya, media sel dikeluarkan dari kelalang pengkulturkan T75 dan dipindahkan ke dalam tiub pengempap. Setelah media dikeluarkan, larutan penimbil fosfat ditambahkan dalam kelalang pengkulturkan T75 dan dibuang. Proses ini dilakukan sebanyak dua kali. Sebanyak 2 mL larutan 0.25% tripsin-EDTA (Gibco, USA) dimasukkan dalam kelalang pengkulturkan tersebut dan diletakkan dalam inkubator selama 5 minit untuk membebaskan sel yang terlekat pada permukaan kelalang pengkulturkan T75. Selepas proses penderaman, 1 mL media yang telah dipindahkan ke dalam tiub pengempap ditambah ke dalam kelalang pengkulturkan tersebut. Ampaian sel dari kelalang pengkulturkan dipindahkan ke tiub pengempap dan kemudian diempap selama 6 minit pada kelajuan 1200 rpm. Selepas proses pengempapan, supernatan daripada tiub pengempap dibuang dan 1 mL media baru ditambahkan bagi melarutkan pelet sel. Ampaian sel tersebut dipindahkan ke kelalang pengkulturkan T75 baru yang mengandungi 3-4 mL media baru dan disimpan dalam inkubator pada 37 °C dengan 5% CO<sub>2</sub>. Sel akan diperhatikan setiap 2 hari dan media sel ditukar 2 kali dalam seminggu.

### *Penyediaan Ekstrak Simen Kaca Ionomer*

Sampel simen kaca ionomer dan simen kaca ionomer yang ditambah dengan nHA direndam dalam larutan 0.5% NaCl selama 24 jam pada suhu bilik. Selepas 24 jam, sampel simen telah menjalani proses pensterilan bawah sinar ultra ungu. Sebanyak 1 mL media lengkap  $\alpha$ MEM dimasukkan ke dalam piring telaga 12. Sampel simen yang steril direndam dalam piring telaga 12 yang mengandungi media lengkap. Sampel simen dieramkan selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan 5% CO<sub>2</sub>. Medium yang bersentuhan dengan sampel simen dikumpulkan selepas 24 jam dan ekstrak sampel ini disteril dengan proses penapisan menggunakan membran berliang 0.2  $\mu$ m.

### *Asai Kesitotoksikan*

Sifat kesitotoksikan simen kaca ionomer diuji dengan asai tiazolil biru tetrazolium bromida (MTT) yang

menggunakan prinsip ujian kolorimetrik. Ujian ini adalah berdasarkan penurunan garam tetrazolium yang larut air kepada endapan formazan diwakili dengan perubahan warna daripada kuning ke ungu. Sel MC3T3-E1 bersama media lengkap  $\alpha$ MEM dimasukkan ke dalam dua piring telaga 96 yang mempunyai permukaan bawah yang rata (10,000 sel/cm<sup>2</sup>) (Intan Zarina et al. 2022). Sel daripada lima pasaj yang berbeza ditempatkan dalam piring telaga 96 dan dikultur selama 24 jam pada suhu 37 °C dengan 5% CO<sub>2</sub>. Selepas penderaman, media lengkap pengkulturkan dibuang dan sebanyak 200  $\mu$ L ekstrak sampel simen kaca ionomer ditambahkan kepada sel. Media lengkap tanpa ekstrak simen digunakan sebagai kumpulan kawalan dalam ujian ini. Sel kemudiannya dieramkan selama 24 jam dan 48 jam. Selepas penderaman, ekstrak simen dibuang dan 5 mg/mL larutan MTT (Sigma, USA) yang dicampurkan bersama media lengkap  $\alpha$ MEM ditambahkan ke setiap telaga dan dieramkan selama 4 jam. Selepas 4 jam, 100  $\mu$ L larutan Dimetil Sulfoksida (DMSO) (QR&C™, New Zealand) ditambahkan ke setiap telaga untuk melarutkan kristal formazan dari MTT dan dicampurkan secara perlahan. Bacaan penyerapan diambil pada panjang gelombang 570 nm dengan menggunakan pembaca mikroplat ELISA plat Model 680 (Varioskan Flash, Thermo). Keviabelan dihitung menggunakan formula berikut:-

$$\text{Keviabelan sel} = \frac{\text{OD ujian} - \text{OD blank}}{\text{OD kawalan} - \text{OD blank}} \times 100$$

### UJIAN ANTIBAKTERIA

Penyediaan Agar dan Kaldu Penginfusan Otak-Jantung Agar Penginfusan Otak-Jantung (BHI) (Thermo Fisher Scientific, USA) disediakan dengan melarutkan 23.5 g serbuk agar BHI dengan 100 mL air suling. Kemudian, air suling ditambahkan ke dalam larutan tersebut sehingga isi padu akhirnya menjadi 500 mL. Larutan agar diautoklaf selama 20 minit pada suhu 121 °C. Selepas diautoklaf, larutan agar dibiarkan untuk sejuk pada suhu bilik. Selepas itu, larutan agar tersebut dituangkan ke dalam piring petri dan dibiarkan pada suhu bilik untuk menjadi keras. Piring agar ini sedia untuk digunakan bagi subkultur bakteria. Kaldu BHI disediakan dengan melarutkan 37 g serbuk kaldu BHI dengan 100 mL air suling. Seterusnya, air suling ditambah ke dalam larutan kaldu tersebut sehingga isi padu akhirnya menjadi 1000 mL. Selepas dicampurkan, larutan ini diautoklaf selama 20 min pada suhu 121 °C. Kaldu BHI dibiarkan untuk sejuk pada suhu bilik dan disimpan dalam peti sejuk pada 4 °C sehingga diperlukan bagi tujuan ujian.

### Ujian Antibakteria (Ujian Cakera Difusi)

Bakteria jenis *Streptococcus mutans* digunakan dalam ujian ini kerana bakteria ini merupakan penyumbang utama kepada perkembangan karies pada gigi. Bakteria *Streptococcus mutans* dikulturkan dalam kaldu BHI. Bakteria ini diambil dengan menggunakan gelung dan dimasukkan terus ke dalam botol steril yang mengandungi kaldu BHI. Kemudian, kaldu BHI yang mengandungi bakteria dikacau dengan teliti dan dieramkan selama 24 jam pada suhu 37 °C. Selepas 24 jam, pertumbuhan bakteria dinilai berdasarkan kekeruhan kaldu BHI tersebut. Bakteria *Streptococcus mutans* daripada kaldu yang keruh telah disubkultur pada piring agar. Sebanyak 100 µL bakteria *Streptococcus mutans* daripada kaldu tersebut dikultur pada piring agar dengan menggunakan teknik *spread plate*. Sampel simen kaca ionomer yang steril diletakkan ke atas piring petri yang disubkultur dengan *Streptococcus mutans* dan dieramkan selama 24 jam pada suhu 37 °C. Saiz zon perencatan di sekitar sampel simen kaca ionomer telah dihitung dengan menolak diameter halo dengan diameter sampel simen.

#### MIKROSKOP IMBASAN ELEKTRON (SEM)

##### Penyediaan Sampel Simen Kaca Ionomer

Morfologi sampel simen kaca ionomer sahaja dan sampel simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA diperhatikan dan dianalisis melalui Mikroskop Imbasan Elektron (Carl Zeiss Merlin) di Pusat Pengurusan Penyelidikan dan Instrumentasi (CRIM), UKM. Dua piring telaga 12 yang dilabel telah digunakan untuk merendamkan sampel simen kaca ionomer. Air suling telah ditambah ke dalam telaga piring dan sampel simen kaca ionomer telah dimasukkan ke dalam air suling. Kemudian, piring telaga yang mengandungi sampel simen telah dieramkan pada suhu 37 °C. Sampel simen kaca ionomer direndam dalam air suling selama 0, 7, 14 dan 21 hari. Sampel-sampel ini dikeringkan, disaluti dengan ion emas dan dianalisis di bawah mikroskop imbasan elektron (SEM) dan Serakan Tenaga Sinar-X (EDX).

#### ANALISIS STATISTIK

Data bagi ujian kesitotoksikan dianalisis dengan ANOVA dan *Dependent T-test* SPSS versi 25.0 bagi menentukan perbezaan antara kumpulan. Semua nilai yang diperoleh dinyatakan dalam bentuk purata ± ralat piawai purata (SEM). Data bagi ujian antibakteria dianalisis dengan *Independent T-test*, SPSS versi 25.0. Perbezaan yang signifikan bagi parameter yang diukur ditunjukkan oleh aras signifikan,  $p < 0.05$ .

## HASIL PENYELIDIKAN

### UJIAN KESITOTOKSIKAN

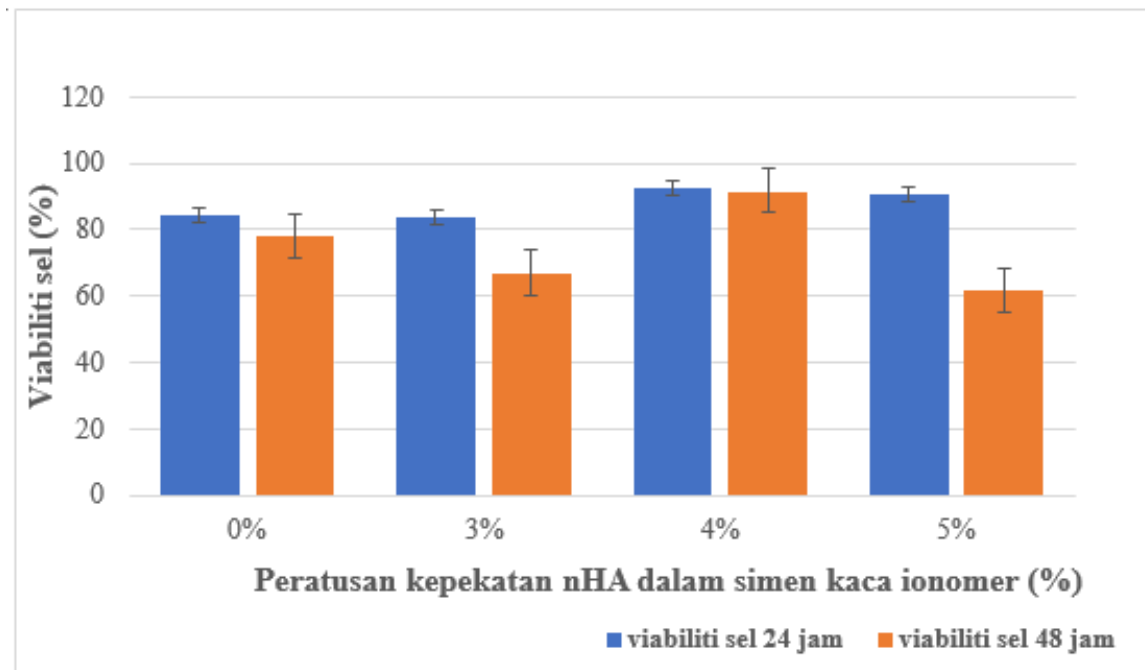
Rajah 1 menunjukkan keviabelan sel MC3T3-E1 yang diuji dengan kumpulan simen kaca ionomer dengan peratusan kepekatan nHA yang berbeza. Simen kaca ionomer dengan peratusan kepekatan nHA sebanyak 0% (simen kaca ionomer sahaja), 3%, 4% dan 5% telah digunakan dalam asai ini. Dalam tempoh pengeraman 24 jam, simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA menunjukkan keviabelan sel yang tertinggi (92.1%) berbanding dengan peratusan kepekatan yang lain. Simen kaca ionomer yang ditambah dengan 3% nHA menunjukkan keviabelan sel yang paling rendah (83.86%). Sementara itu, bagi tempoh 48 jam, simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA merekodkan keviabelan yang tinggi (91.6%) dan simen yang ditambah dengan 5% nHA menunjukkan keviabelan sel yang paling rendah (61.67%). Secara keseluruhan, hanya simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA menunjukkan keviabelan sel yang tinggi bagi kedua-dua titik masa. Berdasarkan asai MTT, tiada kesan kesitotoksikan terhadap kesemua peratusan kepekatan nHA yang digunakan dan nilai IC50 tidak diperolehi kerana sel MC3T3-E1 menunjukkan keviabelan yang tinggi bagi semua peratusan kepekatan nHA. Analisis ANOVA menunjukkan bahawa data bagi ketiga-tiga kumpulan adalah tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan ( $p > 0.05$ ). Ujian T bersandar telah digunakan untuk membandingkan dua titik masa bagi kumpulan kepekatan nHA yang sama. Data menunjukkan simen kaca ionomer yang ditambah dengan 3% dan 5% nHA adalah signifikan ( $p < 0.05$ ) antara 24 jam dan 48 jam.

### UJIAN ANTIBAKTERIA

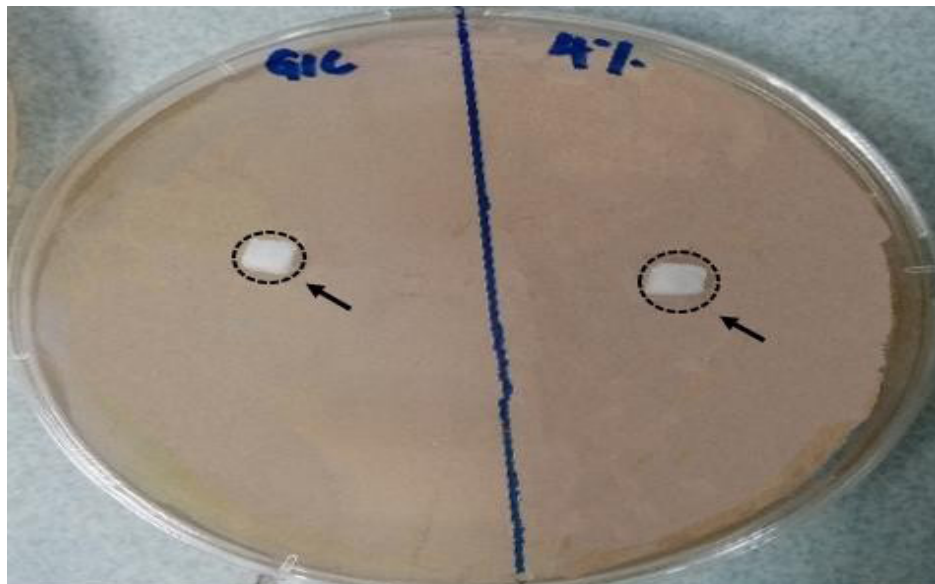
Simen kaca ionomer dan simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA diuji dengan ujian cakera difusi terhadap bakteria *Streptococcus mutans* bagi menentukan sifat antibakteria. Rajah 2 menunjukkan zon perencatan yang terbentuk di sekitar sampel simen kaca ionomer. Berdasarkan rajah berikut, zon perencatan yang terbentuk di sekeliling simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA adalah lebih besar berbanding sampel simen kaca ionomer sahaja. Rajah 3 menunjukkan perbandingan saiz zon perencatan bagi kedua-dua sampel simen kaca ionomer. Berdasarkan purata empat sampel simen yang digunakan bagi setiap kumpulan, saiz zon perencatan yang dicatat oleh sampel simen kaca ionomer dan simen kaca ionomer dengan 4%

nHA masing-masing adalah 2.3 mm dan 3 mm. Secara keseluruhannya, simen kaca ionomer yang ditambah dengan nHA menunjukkan sifat antibakteria yang lebih

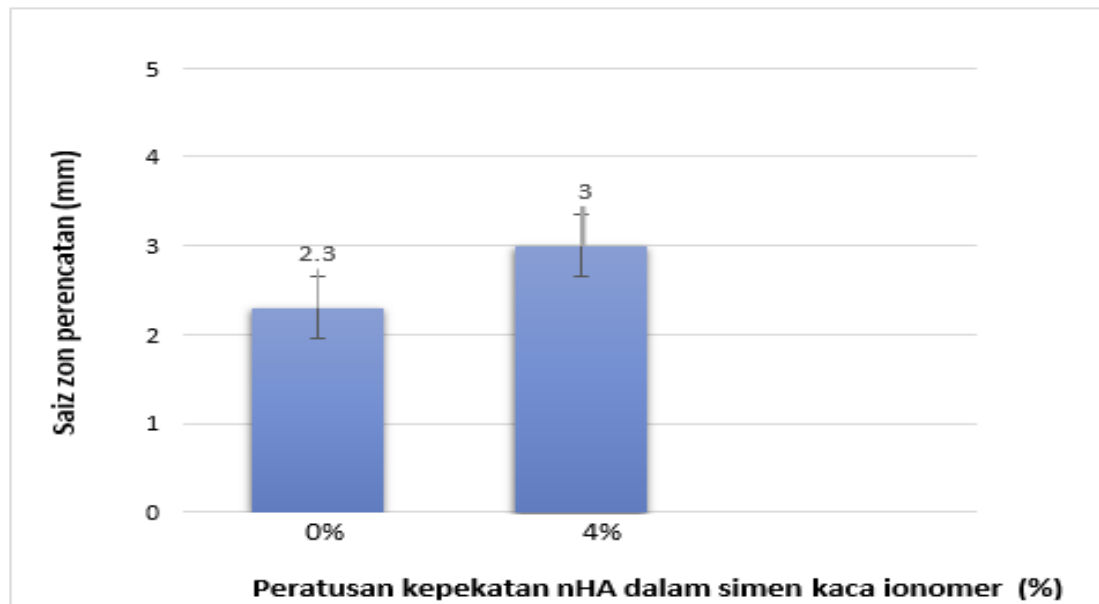
baik berbanding dengan simen kaca ionomer sahaja. Berdasarkan analisis ujian T bebas, nilai p bagi ujian ini adalah  $p > 0.05$  dan data adalah tidak signifikan.



RAJAH 1. Peratusan keviabelan sel MC3T3-E1 dengan simen kaca ionomer dengan peratusan kepekatan nHA yang berbeza bagi tempoh 24 dan 48 jam. Nilai dinyatakan dalam purata  $\pm$  SEM (n=5)



RAJAH 2. Zon perencatan yang terbentuk di sekeliling kedua-dua sampel simen



RAJAH 3. Perbandingan saiz zon perencatan yang terbentuk pada simen kaca ionomer yang ditambah dengan 0% (GIC sahaja) dan 4% nHA bagi tempoh 24 jam. Nilai dinyatakan dalam purata  $\pm$  SEM (n=4)

#### PEMERHATIAN MORFOLOGI MELALUI MIKROSKOP IMBASAN ELEKTRON

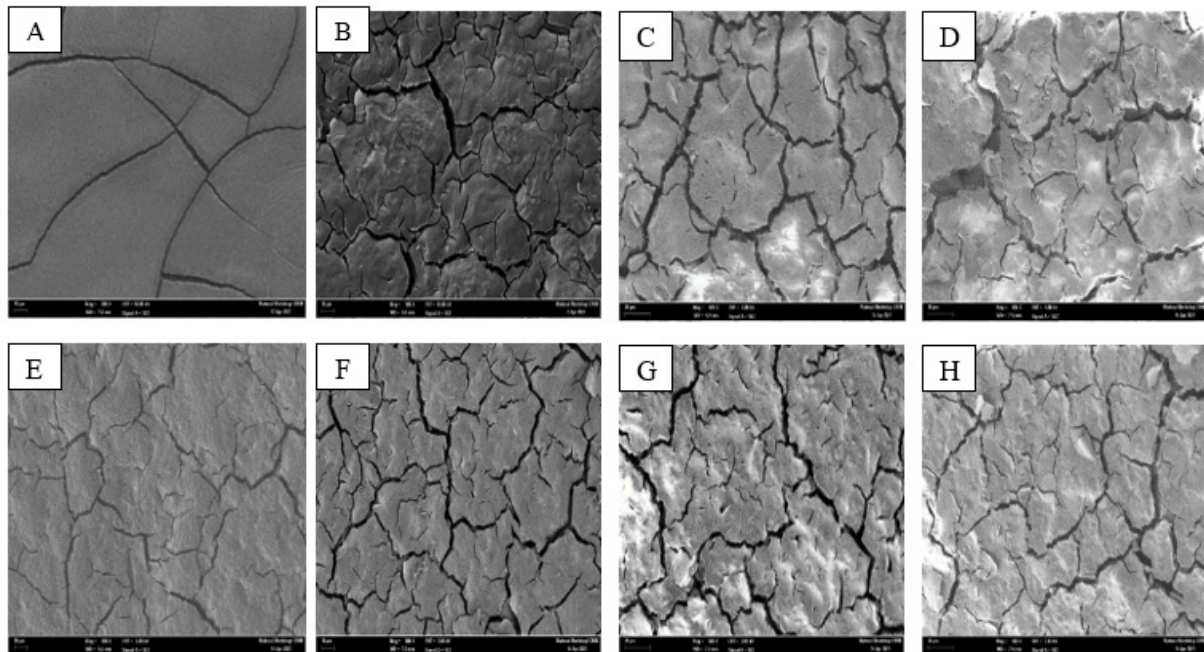
Pemerhatian melalui mikroskop imbasan elektron (SEM) dilakukan ke atas sampel simen kaca ionomer sahaja dan sampel simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA bagi pemerhatian morfologi. Rajah 4(A) - 4(D) menunjukkan morfologi sampel simen kaca ionomer sahaja dan Rajah 4(E) - 4(H) menunjukkan sampel simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA pada hari 0, 7, 14 dan 21 dengan magnifikasi 500x. Rekahan dapat dilihat pada permukaan kedua-dua sampel simen kaca ionomer pada setiap titik masa. Banyak rekahan dapat dilihat pada permukaan sampel simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA pada setiap titik masa seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 4(E) - 4(H) berbanding dengan sampel simen kaca ionomer sahaja. Rajah 4(E) menunjukkan zarah nHA yang berbentuk bulat pada hari 0 dalam sampel simen yang ditambah dengan 4% nHA. Selain ini, tiada perbezaan lain yang diperhatikan pada sampel simen kaca ionomer dan simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA.

Analisis Serakan Tenaga Sinar-X (EDX) juga dilakukan ke atas kedua-dua kumpulan sampel simen bagi menentukan komposisi sampel. Peratusan unsur atom yang terdapat dalam sampel simen pada titik masa 0, 7,

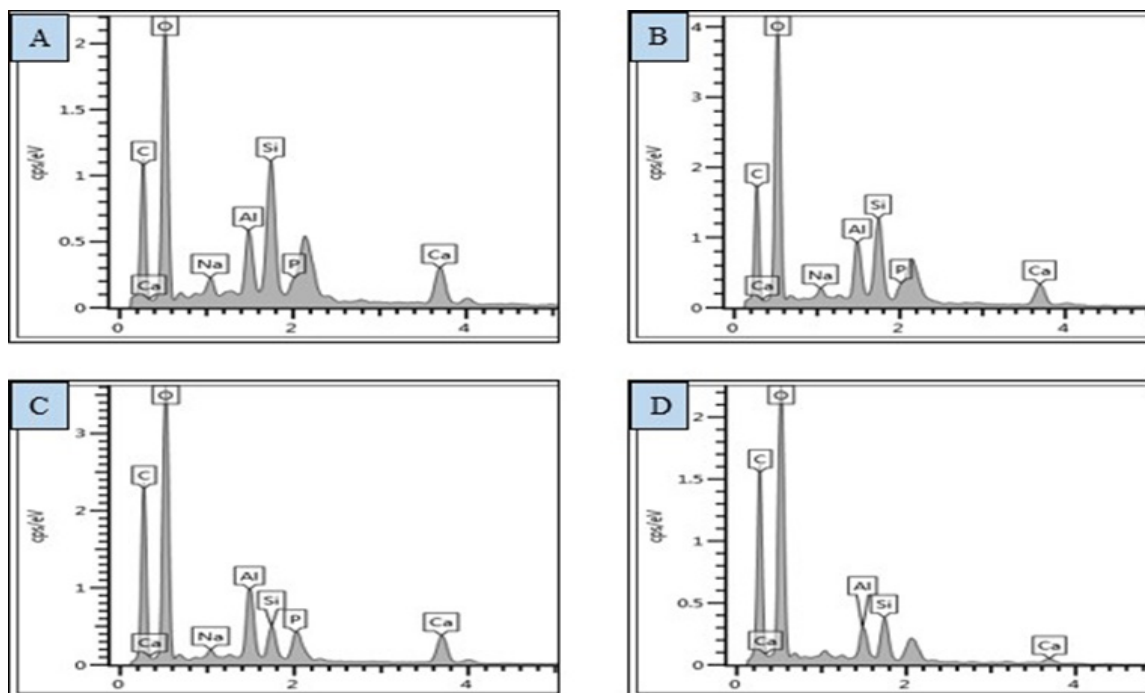
14 dan 21 hari dapat dilihat pada Rajah 5 dan 6. Unsur yang terdapat pada sampel simen kaca ionomer sahaja ialah Oksigen (O), Karbon (C) Kalsium (Ca), Aluminium (Al), Silikon (Si), Natrium (Na) dan Fosforus (P). Manakala, sampel simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA mengandungi unsur, Oksigen (O), Karbon (C) Kalsium (Ca), Aluminium (Al), Silikon (Si), Natrium (Na), Fosforus (P) dan Fluorin (F). Pada setiap titik masa, peratusan unsur atom oksigen lebih tinggi berbanding dengan unsur lain bagi kedua-dua kumpulan simen. Unsur karbon menunjukkan peningkatan yang tinggi dalam sampel simen kaca ionomer sahaja dengan peratusan unsur atom sebanyak 37.6% pada hari ke-21 seperti yang dilihat pada Rajah 5(D). Unsur kalsium dan fosforus menunjukkan penurunan dalam peratusan unsur atom berbanding dengan simen yang ditambah dengan 4% nHA. Unsur silikon dan aluminium juga menunjukkan penurunan dengan peratusan unsur atom sebanyak 6.6.% dan 3.9% masing-masing pada hari ke-21 seperti yang ditunjukkan pada Rajah 5(D). Sementara itu, unsur karbon menunjukkan penurunan dalam sampel simen yang ditambah dengan 4% nHA dengan peratusan unsur atom sebanyak 25.1% pada hari ke-21 seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 6(D). Peratusan unsur atom Ca dan P adalah tinggi berbanding dengan sampel simen

kaca ionomer sahaja. Rajah 6(C) dan 6(D) menunjukkan penambahan unsur fluorin pada hari 14 dan 21 bagi simen yang ditambah dengan 4% nHA. Unsur aluminium dan

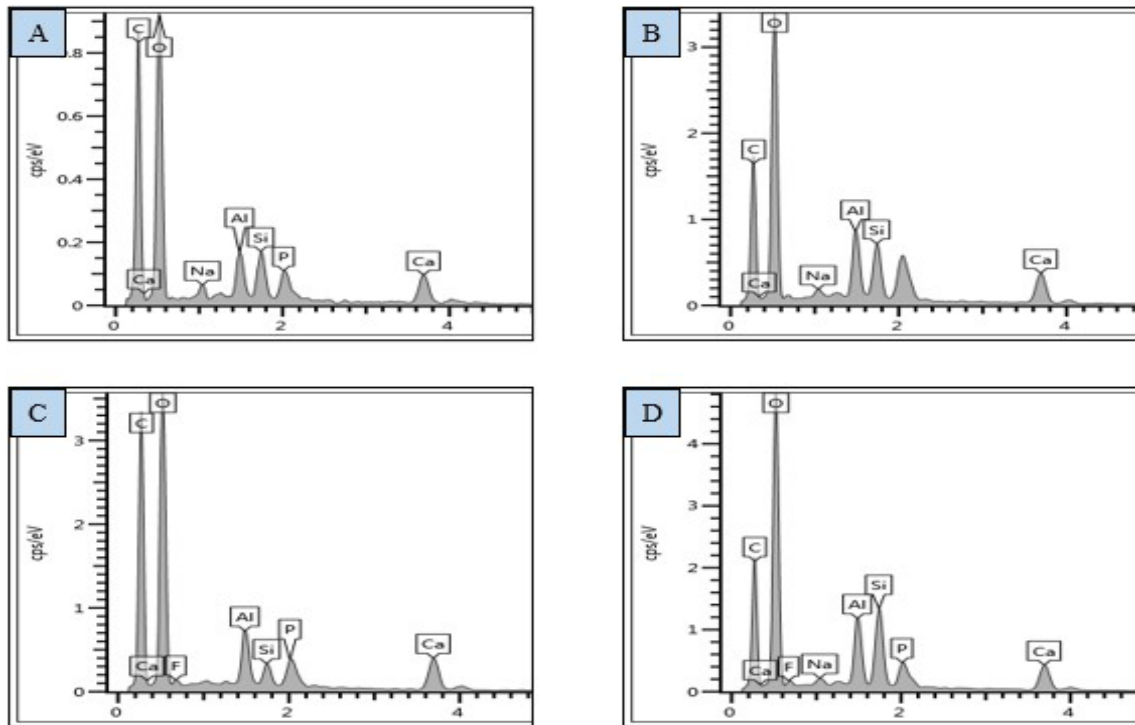
silikon menunjukkan peningkatan, dengan peratusan unsur atom sebanyak 7% dan 8.9% pada hari ke-21 seperti dalam Rajah 6(D).



RAJAH 4. Morfologi sampel simen kaca ionomer sahaja dan simen kaca ionomer dengan 4% nHA di bawah mikroskop imbasan elektron dengan magnifikasi 500X. (A & E) Morfologi simen pada hari 0, (B & F) Morfologi simen pada hari 7, (C & G) Morfologi simen pada hari 14 dan (D & H) Morfologi simen pada hari 21



RAJAH 5. Analisis EDX bagi sampel simen kaca ionomer sahaja. (A) Komposisi unsur dalam simen pada hari 0, (B) Komposisi unsur dalam simen pada hari 7, (C) Komposisi unsur dalam simen pada hari 14 dan (D) Komposisi unsur dalam simen pada hari 21



RAJAH 6. Analisis EDX bagi sampel simen kaca ionomer dengan 4% nHA. (A) Komposisi unsur dalam simen pada hari 0, (B) Komposisi unsur dalam simen pada hari 7, (C) Komposisi unsur dalam simen pada hari 14 dan (D) Komposisi unsur dalam simen pada hari 21

#### PERBINCANGAN

Simen kaca ionomer merupakan bahan restoratif yang digunakan secara meluas dalam bidang pergigian klinikal, terutamanya dalam rawatan pemulihan atraumatik (Da Silva & Cristina Cilense 2006). Kelebihan sifat simen kaca ionomer yang unik telah menyumbang kepada penggunaannya secara meluas dalam bidang restoratif pergigian. Namun, simen kaca ionomer mempunyai beberapa kelemahan seperti mudah patah dan rapuh serta kurang daya tahan terhadap ketegangan yang mengehadkan penggunaannya sebagai bahan restoratif (Garoushi et al. 2018). Kelemahan simen kaca ionomer ini boleh diatasi dengan penambahan bahan lain ke dalam bahan asal simen kaca ionomer. Dalam kajian ini, gabungan nHA yang telah dilaporkan boleh menambahbaik sifat simen kaca ionomer telah dikaji dari segi sifat kesitotoksikan, sifat antibakteria dan ciri morfologinya.

Sifat bioserasi simen kaca ionomer adalah penting untuk memastikan bahawa bahan dalam simen tidak membahayakan tisu pulpa gigi (Lucas, Arita & Nishino 2003). Sebagai bahan restoratif, simen kaca ionomer harus menunjukkan sifat kesitotoksikan yang rendah.

Dalam kajian ini, tiga peratusan kepekatan nHA yang berbeza iaitu, 3%, 4% dan 5% digabungkan ke dalam simen kaca ionomer dan sifat kesitotoksikan simen ditentukan dengan asai MTT.

Berdasarkan hasil kajian yang diperoleh, sel MC3T3-E1 yang dikultur bersama simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA menunjukkan keviabelan sel yang tinggi berbanding dengan peratusan berat nHA yang lain bagi titik masa 24 dan 48 jam. Secara keseluruhannya, hasil asai MTT menunjukkan bahawa semua peratusan kepekatan nHA tidak mempunyai kesan sitotoksik terhadap sel MC3T3-E1 kerana tidak terdapat perubahan pada keviabelan sel terhadap nHA yang melebihi 50% ketoksikan (IC50). Dari segi statistik, data yang diperoleh daripada asai MTT tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan ( $p > 0.05$ ) bagi ketiga-tiga kepekatan nHA. Perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) adalah pada kepekatan 3% dan 5% nHA antara 2 titik masa tersebut. Hasil penyelidikan ini adalah selari dengan kajian yang dilakukan oleh Pagano et al. (2019) yang mengkaji kesan penambahan 4% nHA ke dalam simen kaca ionomer dan melaporkan bahawa simen yang ditambah dengan nHA berjaya mengurangkan kesitotoksikan terhadap sel



BSCL138 (*human gingival fibroblasts*) dan BSCL143 (*keratinocytes*). Kesitotoksikan yang rendah terhadap sel adalah disebabkan oleh komposisi kimia dan struktur kristal hidroksiapatit yang sama dengan struktur apatit yang terdapat pada manusia (Farinawati et al. 2020). Selain itu, Parisa et al. (2021) menunjukkan bahawa sifat kesitotoksikan berkurang apabila peratusan kepekatan nHA ditingkatkan sehingga 10%. Namun, dalam kajian tersebut, 5% nHA menunjukkan keviabelan sel yang rendah pada 48 jam (Parisa et al. 2021). Hal ini mungkin disebabkan oleh pembebasan atau pembentukan produk sampingan yang toksik hasil daripada interaksi ionik antara kristal nHA dan asid poliakrilik (Najeeb et al. 2016). Kenyataan ini selari dengan hasil yang diperoleh daripada kajian ini, dengan 5% nHA menunjukkan keviabelan sel yang paling rendah pada 48 jam. Selain itu, kajian lain juga turut menunjukkan bahawa penambahan sehingga 5% nHA akan meningkatkan kekuatan lenturan simen kaca ionomer tetapi kekuatan tersebut akan berkurangan sekiranya melebihi 5% nHA (Mahshid et al. 2012; Poorzandpoush et al. 2017). Oleh itu, 4% berat kepekatan nHA menunjukkan sifat bioserasi yang terbaik berbanding dengan peratusan kepekatan 3% dan 5% nHA.

Sebagai bahan pemulih, simen kaca ionomer harus menunjukkan sifat antibakteria yang baik bagi mengelakkan perkembangan karies pada gigi. Ini adalah kerana terdapat mikroorganisma pada persekitaran kaviti mulut yang menjadi punca utama yang mengundang kepada perkembangan karies pada gigi (Arzanlou & Imani Rad 2021). Dalam kajian ini, 4% nHA ditambah ke dalam simen kaca ionomer bagi menentukan sifat antibakteria terhadap bakteria *Streptococcus mutans* dengan ujian cakera difusi. *Streptococcus mutans* digunakan dalam ujian ini kerana ia merupakan bakteria utama yang menyebabkan pembentukan dan perkembangan karies dalam gigi (de Paz 2007). Sifat antibakteria simen kaca ionomer ditentukan berdasarkan saiz zon perencatan yang terbentuk di sekitar sampel simen. Zon perencatan terbentuk apabila zarah nHA memasuki sel bakteria dan menyebabkan tekanan oksidatif pada sel bakteria. Tekanan oksidatif ini akan merencatkan pertumbuhan bakteria dan menyebabkan kematian sel bakteria (Gupta et al. 2015).

Berdasarkan hasil kajian yang diperoleh, zon perencatan yang dihasilkan oleh simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA adalah lebih besar daripada simen kaca ionomer sahaja. Secara keseluruhan, simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA menunjukkan sifat antibakteria yang lebih baik daripada

simen kaca ionomer sahaja. Namun, data yang diperoleh daripada ujian ini adalah tidak signifikan ( $p > 0.05$ ). Walau bagaimanapun, hasil daripada kajian ini selari dengan kajian yang dilakukan oleh Alatawi, Elsayed dan Mohamed (2019) berkenaan sifat antibakteria simen kaca ionomer yang ditambah dengan nHA terhadap bakteria *Streptococcus mutans*. Kajian tersebut melaporkan bahawa sampel simen kaca ionomer yang ditambah dengan 10% nHA merekodkan saiz zon perencatan yang tinggi. Zon perencatan seluas 8.6 mm direkodkan apabila peratusan kepekatan nHA yang ditambahkan ke dalam simen kaca ionomer ditingkatkan sebanyak 10%. Manakala, sampel simen yang tidak ditambah dengan nHA merekodkan saiz zon perencatan kurang daripada 1 mm. Selain itu, kajian berkenaan sifat antibakteria simen kaca ionomer yang ditambah dengan nHA oleh Pagano et al. (2019) melaporkan bahawa penambahan 4% nHA mempertingkatkan aktiviti antibakteria berbanding dengan simen kaca ionomer sahaja. Gupta et al. (2015) juga telah melakukan kajian berkenaan sifat antibakteria simen kaca ionomer yang ditambahkan dengan zink oksida (ZnO) dan nHA. Hasil kajian menunjukkan bahawa penambahan ZnO dan nHA ke dalam simen kaca ionomer telah merencatkan aktiviti antibakteria *E. coli* dan *Streptococcus mutans* secara signifikan ( $p < 0.05$ ).

Morfologi sampel simen kaca ionomer sahaja dan simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA ditentukan dengan menggunakan mikroskop imbasan elektron (SEM). Analisis SEM memberikan pengimejan dengan resolusi yang tinggi bagi menilai rekahan, kelemahan, bahan cemar atau hakisan pada permukaan sesuatu objek. Melalui analisis ini, gambaran yang jelas mengenai sebarang rekahan yang terdapat pada sampel simen serta struktur zarah nHA dapat diperoleh. Berdasarkan Gjorgievska et al. (2015), rekahan yang terbentuk pada permukaan sampel simen adalah disebabkan oleh kekosongan udara. Pembentukan rekahan yang banyak pada simen yang ditambah dengan 4% nHA adalah disebabkan oleh ikatan kimia yang kuat antara permukaan matriks dan zarah nHA (Esteves et al. 2008). Rekahan pada simen kaca ionomer adalah bermanfaat dari segi degradasi kerana ia membolehkan penyerapan cecair biologi melalui permukaan simen ke dalam kaviti. Selain itu, zarah nHA yang berbentuk bulat dapat diperhatikan pada permukaan sampel yang ditambah dengan 4% nHA pada hari ke 0. Kajian yang dijalankan oleh Manal et al. (2021) dan Sundaram, Durance dan Wang (2008) juga menunjukkan morfologi nHA yang sama seperti dalam kajian ini. Zarah nHA

berkeupayaan untuk memenuhi ruang-ruang yang kecil kerana saiznya. Hal ini meningkatkan keseragaman permukaan dan peredaran zarah secara luas dalam simen kaca ionomer (Genaro et al. 2020). Kristal apatit yang berbentuk bulat juga menunjukkan sifat bioserasi dan bioaktiviti yang baik dan ia meningkatkan keviabelan sel pada simen kaca ionomer (Sasani et al. 2013). Tiada perbezaan lain yang diperhatikan pada sampel simen selain rekahan dan struktur nHA. Hal ini mungkin kerana hanya permukaan sampel simen sahaja diperhatikan dalam kajian ini dan pemerhatian keratan rentas yang boleh mengesan perbezaan yang lain pada simen tidak dapat dilakukan.

Analisis Serakan Tenaga Sinar-X (EDX) dijalankan bagi menentukan komposisi unsur yang terdapat pada simen tersebut. Analisis ini merupakan analisis kimia yang biasanya dilakukan bersama analisis SEM. Kebanyakan unsur yang dikesan pada sampel simen merupakan unsur yang terdapat pada bahan kimia yang digunakan dalam proses penyediaan simen kaca ionomer. Peratusan unsur atom O adalah lebih tinggi pada setiap titik masa berbanding dengan unsur lain bagi kedua-dua kumpulan simen. Peratusan atom unsur O adalah sedikit tinggi pada simen kaca ionomer sahaja apabila dibandingkan dengan sampel simen ionomer kaca yang ditambah dengan 4% nHA. Hal ini disebabkan oleh penggunaan unsur oksida dalam proses fabrikasi serbuk gelas alumino-silikat-fluorida (Wan Jusoh et al. 2021). Unsur karbon yang dikesan pada kedua-dua simen berasal daripada poliasid yang digunakan dalam proses penghasilan simen kaca ionomer. Unsur C menunjukkan penurunan pada hari 21 dalam simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA kerana zarah nHA mengurangkan kuantiti asid poliakrilik yang diperlukan untuk membentuk kalsium poliakrilat (Moheet et al. 2018). Peratusan unsur atom bagi Ca dan P adalah tinggi dalam sampel simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA berbanding dengan sampel simen kaca ionomer sahaja. Hal ini kerana, unsur Ca dan P merupakan unsur utama yang terdapat pada hidroksiapatit dan komposisi unsur ini penting bagi saturasi apatit yang meningkatkan proses mineralisasi semula (Glowacki & Mizuno 2008). Unsur minor seperti Al, Si dan Na menunjukkan peningkatan dalam simen kaca ionomer yang ditambah dengan 4% nHA. Unsur F juga merupakan unsur minor yang dikesan pada hari 14 dan 21 dalam simen yang ditambah dengan 4% nHA. Peningkatan unsur minor ini adalah disebabkan oleh keliangan nHA yang meningkatkan pembebasan unsur Al, Si, Na dan F (Rahman et al. 2019). Kajian oleh Zilberman (2014) melaporkan bahawa unsur Al, Si, dan

F adalah penting bagi merencatkan proses demineralisasi dan meningkatkan proses mineralisasi semula serta meningkatkan aktiviti antibakteria simen kaca ionomer.

Berdasarkan kajian ini, terdapat beberapa limitasi yang dapat ditangani melalui kajian lanjutan. Tempoh masa bagi ujian kesitotoksikan menggunakan pengasaian MTT perlu dilanjutkan kepada 72 jam dan 96 jam bagi melihat secara keseluruhan kesan kesitotoksikan simen ionomer kaca yang ditambah dengan nanohidroksiapatit terhadap sel MC3T3-E1. Kekuatan mekanikal simen ionomer kaca selepas penggabungan dengan 3%, 4% dan 5% nanohidroksiapatit perlu dikaji bagi memastikan ketahanan dan kestabilan semasa penggunaannya sebagai bahan tampalan gigi. Nanohidroksiapatit juga berkemungkinan mempunyai potensi untuk meningkatkan kekuatan mampatan simen ionomer kaca. Oleh itu, pengukuran kekuatan mampatan dalam (MPa) dan ujian kekerasan mikro (*micro-hardness*) untuk setiap sampel boleh dilakukan pada kajian lanjutan. Penggunaan antibiotik sebagai kumpulan positif dalam ujian antibakteria juga perlu dilakukan bagi menyokong kesan antibakteria terhadap 4% nanohidroksiapatit. Hasil penemuan kajian ini hanya merangkumi kajian secara *in vitro*. Justeru, kajian secara *in vivo* melibatkan model haiwan seperti tikus perlu dijalankan untuk mengetahui dengan lebih lanjut kesan penggabungan nanohidroksiapatit pada simen ionomer kaca. Kajian secara *in vivo* dapat memberikan data yang relevan mengenai keadaan fisiologi dan patologi yang seterusnya dapat digunakan untuk mewujudkan intervensi klinikal.

#### KESIMPULAN

Nanohidroksiapatit (nHA) merupakan bahan seramik yang aktif secara biologi yang digunakan sebagai bahan tambah dalam simen kaca ionomer bagi mempertingkatkan dan menambahbaik sifatnya. Penggabungan 4% nHA ke dalam simen ionomer kaca mengurangkan sifat kesitotoksikan dan meningkatkan keviabelan sel pada simen kaca ionomer. Selain itu, penambahan 4% nHA ke dalam simen kaca ionomer juga mempertingkatkan sifat antibakteria dan menyerlahkan morfologi simen kaca ionomer. Secara keseluruhan, 4% nHA sesuai digunakan sebagai bahan tambah dalam simen kaca ionomer bagi meningkatkan sifat simen.

#### PENGHARGAAN

Setinggi-tinggi penghargaan ditujukan kepada Universiti Kebangsaan Malaysia dan Kementerian Pengajian Tinggi Malaysia atas tajaan bagi menjalankan penyelidikan ini di bawah Skim Geram Penyelidikan Fundamental (FRGS), FRGS/1/2020/SKK0/UKM/03/4.

## RUJUKAN

- Alatawi, R.A.S., Elsayed, N.H. & Mohamed, W.S. 2019. Influence of hydroxyapatite nanoparticles on the properties of glass ionomer cement. *Journal of Materials Research and Technology* 8(1): 344-349.
- Alobiady, A.N., Al-Helli, A.H. & Al-Hamaoy, A.R. 2019. Effect of adding micro and nano-carbon particles on conventional glass ionomer cement mechanical properties. *Ain Shams Engineering Journal* 10(4): 785-789.
- Arzanlou, M. & Imani Rad, H. 2021. Comparative assessment of fluoride released and antimicrobial effects of three types of glass ionomer cements on cariogenic dental bacteria: An *in-vitro* study. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 31(202): 126-135.
- Chavez de Paz, L.E. 2007. Redefining the persistent infection in root canals: Possible role of biofilm communities. *Journal of Endodontics* 33(6): 652-662.
- Chetty, A., Wepener, I., Marei, M.K., Kamary, Y. & Moussa, R.M. 2012. *Synthesis, Properties and Applications of Hydroxyapatite*. Hauppauge: Nova Science Publishers.
- Da Silva, R.C. & Cristina Cilense, Z. 2006. Surface roughness of glass ionomer cements indicated for atraumatic restorative treatment (ART). *Brazilian Dental Journal* 17(2): 106-109.
- Davidson, C.L. 2006. Advances in glass-ionomer cements. *Journal of Applied Oral Science* 14: 3-9.
- Esteves Barata, T.J., Bresciani, E., Adachi, A., Fagundes, T.C., Ramos Carvalho, C.A. & Navarro, M.F.L. 2008. Influence of ultrasonic setting on compressive and diametral tensile strengths of glass ionomer cements. *Materials Research* 11(1): 57-61.
- Farinawati, Y., Nurmimie, A., Nur Atmaliya, L., Shahrul Hisham, Z.A. & Rohaya, M.A.W. 2020. Scaffold selection for tissue engineering in dentistry. *Medicine and Health* 15(1): 34-53.
- Garoushi, S., He, J., Vallittu, P.K. & Lasilla, L.V. 2018. Effect of discontinuous glass fibers on mechanical properties of glass ionomer cement. *Acta Biomaterialia* 4(1): 72-80.
- Genaro, L.E., Anovazzi, G., Hebling, J. & Zuanon, A.C.C. 2020. Glass ionomer cement modified by resin with incorporation of nanohydroxyapatite: *in vitro* evaluation of physical-biological properties. *Nanomaterials* 10: 1412.
- Gjorgievska, E., Van Tendeloo, G., Nicholson, J.W., Coleman, N.J., Slipper, I.J. & Booth, S. 2015. The incorporation of nanoparticles into conventional glass- ionomer dental restorative cements. *Microscopy and Microanalysis* 21(2): 392-406.
- Glowacki, J. & Mizuno, S. 2008. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers* 89: 338-344.
- Gupta, A., Singh, D., Raj, P., Gupta, H., Verma, S. & Bhattacharya, S. 2015. Investigaton of ZnO-hydroxyapatite nanocomposite incorporated in restorative glass ionomer cement to enhance its mechanical and antibacterial properties. *Journal of Bionanoscience* 9(3): 190-196.
- Intan Zarina, Z.A., Thanaletchumi, M., Rohaya, M.A.W., Farinawati, Y. & Shahrul Hisham, Z.A. 2022. A comparative analysis of ascorbic acid-induced cytotoxicity and differentiation between SHED and DPSC. *Current Stem Cell Research & Therapy* 17(6): 576-588.
- Lucas, M.E., Arita, K. & Nishino, M. 2003. Toughness, bonding and fluoride-release properties of hydroxyapatite-added glass ionomer cement. *Biomaterials* 24(21): 3787-3794.
- Mahshid Mohammadi, B., Mohammad, A., Mohammad Bagher, R. & Parisa Golkar, T. 2012. Effect of incorporation of various amounts of nano-sized hydroxyapatite on the mechanical properties of a resin modified glass ionomer. *Journal Dental School* 30(4): 216-223
- Manal, N.H., Farinawati, Y., Nur Atmaliya, L., Shahrul Hisham, Z.A. & Rohaya, M.A. 2021. Comparative evaluation of osteogenic differentiation potential of stem cells derived from dental pulp and exfoliated deciduous teeth cultured over granular hydroxyapatite based scaffold. *BMC Oral Health* 21(1): 1-13.
- Moheet, I.A., Luddin, N., Ab Rahman, I., Masudi, S.M., Kannan, T.P. & Abd Ghani, N.R.N. 2018. Evaluation of mechanical properties and bond strength of nano- hydroxyapatite-silica added glass ionomer cement. *Ceramics International* 44(8): 9899-9906.
- Molina, G.F., Cabral, R.J., Mazzola, I., Lascano, L.B. & Frencken, J.E. 2013. Mechanical performance of encapsulated restorative glass-ionomer cements for use with Atraumatic Restorative Treatment (ART). *Journal of Applied Oral Science* 21: 243-249.
- Moshaverinia, A., Ansari, S., Moshaverinia, M., Roohpour, N., Darr, J.A. & Rehman, I. 2008. Effects of incorporation of hydroxyapatite and fluoroapatit nanobioceramics into conventional glass ionomer cements (GIC). *Acta Biomaterialia* 4(2): 432-440.
- Najeeb, S., Khurshid, Z., Zafar, M.S., Khan, A.S., Zohaib, S., Martí, J.M.N., Sauro, S., Matinlinna, J.P. & Rehman, I.U. 2016. Modifications in glass ionomer cements: Nano-sized fillers and bioactive nanoceramics. *International Journal of Molecular Sciences* 17(7): 1134.
- Nur Atmaliya, L., Rohaya, M.A.W., Shahrul Hisham, Z.A., Nurrul Shaqinah, N., Lau, S.F. & Farinawati, Y. 2022. Comparison between hydroxyapatite and polycaprolactone scaffolds in inducing osteogenic differentiation and augmenting maxillary bone regeneration. *PeerJ* 10: e13356.
- Pagano, S., Chieruzzi, M., Balloni, S., Lombardo, G., Torre, L., Bodo, M., Cianetti, S. & Marinucci, L. 2019. Biological, thermal and mechanical characterization of modified glass ionomer cements: The role of nanohydroxyapatite, ciprofloxacin and zinc L-carnosine. *Materials Science and Engineering C* 94: 76-85.
- Parisa, G., Omrani, L.R., Zohourinia, S., Ahmadi, E. & Asadian, F. 2021. Cytotoxic effect of addition of different concentrations of nanohydroxyapatite modified and conventional glass ionomer cements on L929 murine fibroblasts. *Frontiers in Dentistry* 18: 17.

- Poorzandpoush, K., Omrani, L.R., Jafarnia, S.H., Golkar, P. & Atai, M. 2017. Effect of addition of nano hydroxyapatite particles on wear of resin modified glass ionomer by tooth brushing simulation. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry* 9(3): e372.
- Rahman, N.A.A., Matori, K.A., Zaid, M.H.M., Zainuddin, N., Aziz, S.A., Khiri, M.Z.A., Jalil, R.A. & Jusoh, W.N.W. 2019. Fabrication of alumino-silicate-fluoride based bioglass derived from waste clam shell and soda lime silica glasses. *Results in Physics* 12: 743-747.
- Rohaya, M.A.W., Nurmimie, A., Shahrul Hisham, Z.A., Che Azurahaman, C.A. & Farinawati, Y. 2020. Effects of the sintering process on nacre-derived hydroxyapatite scaffolds for bone engineering. *Molecules* 25(14): 3129.
- Rosenbach, G., Cal-Neto, J.P., Oliveira, S.R., Chevitaese, O. & Almeida, M.A. 2007. Effect of enamel etching on tensile bond strength of brackets bonded *in vivo* with a resin-reinforced glass ionomer cement. *The Angle Orthodontist* 77(1): 113-116.
- Sasani, N., Khadivi Ayask, H., Zebarjad, S.M. & Vahdati Khaki, J. 2013. Characterization of rod-like high-purity fluorapatite nanopowders obtained by sol-gel method. *Journal of Ultrafine Grained and Nanostructured Materials* 46(1): 31-37.
- Sidhu, S. & Nicholson, J. 2016. A Review of glass-ionomer cements for clinical dentistry. *Journal of Functional Biomaterials* 7: 16.
- Souza-Zaroni, D., Christine, W., Nhani, V.T., Ciccone-Nogueira, J.C., Chinelatti, M.A., Palma-Dibb, R.G. & Corona, S.A.M. 2006. Shear bond strength of glass-ionomer cements to air-abraded dentin. *Journal of Adhesive Dentistry* 8(4): 233-237.
- Sundaram, J., Durance, T.D. & Wang, R. 2008. Porous scaffold of gelatin–starch with nanohydroxyapatite composite processed via novel microwave vacuum drying. *Acta Biomaterialia* 4(4): 932-942.
- Upadhy, P.N. & Kishore, G. 2005. Glass ionomer cement - The different generations. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs* 18(2): 158-65.
- Wan Jusoh, W.N., Matori, K.A., Zaid, M.H.M., Zainuddin, N., Khiri, M.Z.A., Rahman, N.A.A., Jalil, R.A. & Kul, E. 2021. Incorporation of hydroxyapatite into glass ionomer cement (GIC) formulated based on alumino-silicate-fluoride glass ceramics from waste materials. *Materials* 14(4): 954.
- Zilberman, U. 2014. Ion exchanges between glass-ionomer restorative material and primary teeth components- an *in-vivo* study. *Oral Biology and Dentistry* 2(1): 1.

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: drfarinawati@ukm.edu.my