



**EFEK APLIKASI CPP-ACP TERHADAP KEKERASAN DAN  
MORFOLOGI PERMUKAAN EMAIL GIGI SETELAH  
DIRENDAM DALAM MINUMAN BERKARBONASI**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Studi Kedokteran Gigi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

oleh

**Ega Sofiana**

**NIM. 111610101053**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Almamater, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. Ayahanda dr. Sunarno dan Ibunda Supadmi, serta kakak Kristiawan, Kristiyono dan Kristianto;
3. Pahlawan tanpa tanda jasa yang telah mengajarkan saya tentang semua hal baru di dunia ini.

**MOTTO**

*Don't aim for success if you want it; just do what you love and believe in, and it will come naturally. \*)*

*All of our dreams can come true if we have the courage to pursue them. \*\*)*



---

\*) David Frost

\*\*) Walt Disney

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ega Sofiana

NIM : 111610101053

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Efek Aplikasi CPP-ACP terhadap Kekerasan dan Morfologi Permukaan Email Gigi setelah Direndam dalam Minuman Berkarbonasi” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 4 Juni 2015

Yang menyatakan,

Ega Sofiana

NIM 111610101053

**SKRIPSI**

**EFEK APLIKASI CPP-ACP TERHADAP KEKERASAN DAN  
MORFOLOGI PERMUKAAN EMAIL GIGI SETELAH  
DIRENDAM DALAM MINUMAN BERKARBONASI**

Oleh

Ega Sofiana

NIM 111610101053

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Sulistiyani, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Aplikasi CPP-ACP Terhadap Kekerasan dan Morfologi Permukaan Email Gigi setelah Direndam dalam Minuman Berkarbonasi” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Kamis. 4 Juni 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

drg. Yenny Yustisia, M.Biotech  
NIP 197903252005012001

Pembimbing Ketua,

drg. Sulistiyani, M.Kes  
NIP 196601311996012001

Penguji Anggota,

drg. Sri Lestari, M.Kes  
NIP 196608191996012001

Pembimbing Anggota,

drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc  
NIP 198204242008012022

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,

drg. Hj. Herniyati, M. Kes  
NIP 195909061985032001

## RINGKASAN

**Efek Aplikasi CPP-ACP terhadap Kekerasan dan Morfologi Permukaan Email Gigi setelah Direndam dalam Minuman Berkarbonasi;** Ega Sofiana; 111610101053; 2015; 43 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Demineralisasi merupakan suatu keadaan kristal-kristal permukaan gigi mengalami kehilangan mineral, yang disebabkan oleh keterlibatan bakteri atau adanya asam pada kandungan minuman berkarbonasi. Minuman berkarbonasi secara umum memiliki pH yang rendah, yang akan berkontribusi terhadap terjadinya demineralisasi email gigi. Satu botol minuman yang dikonsumsi secara berulang-ulang dalam jangka waktu singkat atau diminum seteguk-seteguk dalam waktu yang lama dapat meningkatkan resiko terjadinya demineralisasi permukaan email, menurunkannya kekerasan mikro dan meningkatkan kekasaran permukaan email gigi. Demineralisasi akan menyebabkan terbentuknya spot putih pada email gigi dan apabila terjadi secara terus menerus dalam jangka waktu yang lama akan membentuk kavitas dan dengan adanya kontribusi dari mikroorganisme, substrat serta kondisi host yang mendukung, maka akan terjadi proses karies pada gigi.

Salah satu cara untuk mengatasi dan mencegah terjadinya karies adalah dengan pemberian bahan antikariogenik yang dapat menghambat demineralisasi dan memicu remineralisasi. Suatu agen yang mengandung kalsium dan fosfat dengan atau tanpa adanya turunan kasein dapat mengurangi resiko demineralisasi email. *Casein Phospopeptides- Amorphous Calcium Phospate* (CPP-ACP) merupakan suatu bahan antikariogenik yang dapat remineralisasi lesi pada permukaan email dan dentin. Pemberian CPP-ACP secara rutin dapat menggantikan kalsium yang hilang akibat proses demineralisasi pada gigi.

Penelitian ini melihat efek pemberian CPP-ACP selama 28 hari pada email gigi yang telah direndam dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit dan kemudian

dilakukan uji kekerasan dengan menggunakan *Portable Hardness Tester* serta dilihat gambaran morfologi permukaannya dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope*. Hasil yang didapatkan dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi CPP-ACP untuk melihat perbedaannya.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa kekerasan pada email gigi yang direndam dalam minuman berkarbonasi dan diberi CPP-ACP lebih tinggi yaitu 159,5 HBN dibandingkan dengan email yang tidak diberi CPP-ACP yaitu 100,25 HBN. Hasil penelitian uji kekerasan yang diperoleh dilakukan analisis data, berdasarkan hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene* didapatkan data berdistribusi normal dan homogen. Uji statistik menggunakan uji parametrik yaitu *Independent t-test* didapatkan nilai signifikansi 0,022 ( $p < 0,05$ ) yang artinya terdapat adanya perbedaan yang bermakna pada kekerasan email gigi kelompok yang diberi CPP-ACP dengan kelompok yang tidak diberi CPP-ACP. Hasil SEM menunjukkan gambaran permukaan email pada kelompok yang diberi CPP-ACP lebih halus dengan sedikit porositas dibandingkan dengan email yang tidak diberi CPP-ACP.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Aplikasi CPP-ACP terhadap Kekerasan dan Kekasaran Email Gigi setelah Direndam dalam Minuman Berkarbonasi”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. drg. Hj. Herniyati, M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian hingga selesainya penulisan ini;
2. drg. Sulistiyani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Nadie Fatimatuzzahro, MD.Sc., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberi bimbingan, saran, motivasi dan meluangkan waktu untuk membimbing penyusunan skripsi ini;
3. drg. Yenny Yustisia, M.Biotech., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Sri Lestari, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberi masukan, saran dan waktu sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. drg. Niken Probosari, M. Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan perhatian dan motivasi kepada saya;
5. Ayahanda dr. Sunarno dan Ibunda Supadmi yang memberikan doa, motivasi dan semangat untuk terus berjuang dalam menuntut ilmu;
6. Kakakku Kristiawan, Kristiyono dan Kristianto yang telah memberikan semangat, motivasi dan nasihat-nasihat;
7. Mbak Indri, Pak Pin, Mbak Nur Zulaiha dan Mas Luki yang telah membantu selama proses penelitian;

8. Y. Adi Nurcahyo yang telah menemani hingga diselesaikannya skripsi ini, terima kasih atas segala dukungan, semangat, dan doa yang diberikan;
9. Teman seperjuanganku Mahardhika, Vanda Ayu, Ratih Delio, Alindia Destasari, Asyiah Hamasah dan Maria Harina terima kasih atas kerjasama, canda tawa, bantuan dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini;
10. Teman-teman KKN Tematik Posdaya, terima kasih atas dukungan dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini;
11. Sahabat-sahabatku Andhika Ariastuti, Arly Afina, Nala Ghassani, Wendy Sarasjati, Azifatul Azifah dan Sidicky, terima kasih atas dukungan semangat dan motivasi yang diberikan;
12. Angkatan 2011, yang telah bersama-sama selama hampir 4 tahun ini. Terima kasih atas rasa kekeluargaan, solidaritas kalian dan semoga kita menjadi dokter gigi yang bermanfaat;
13. Semua pihak yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini;

Penulis menyadari kesempurnaan hanya milik Allah SWT, maka dari itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk membantu melengkapi dan menyempurnakan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya dalam bidang kedokteran gigi.

Jember, 4 Juni 2015

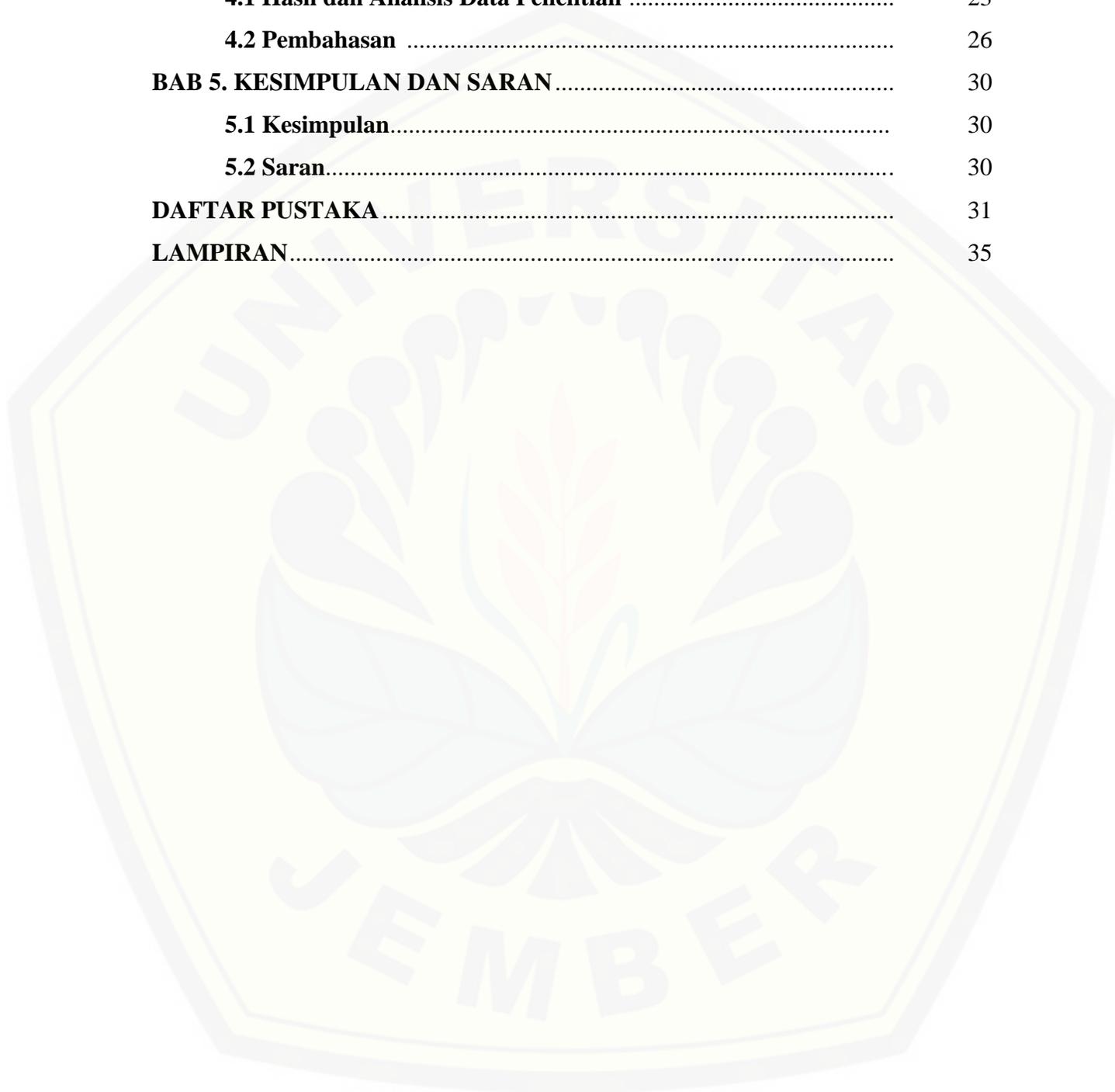
Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERBIMBINGAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Minuman Berkarbonasi</b> .....	5
<b>2.2 Email</b> .....	6
2.2.1 Demineralisasi dan Remineralisasi Email .....	7
<b>2.3 CPP-ACP</b> .....	8
<b>2.4 Kekerasan Permukaan</b> .....	10
<b>2.5 Scanning Electron Microscope (SEM)</b> .....	11
<b>2.6 Hipotesis</b> .....	13

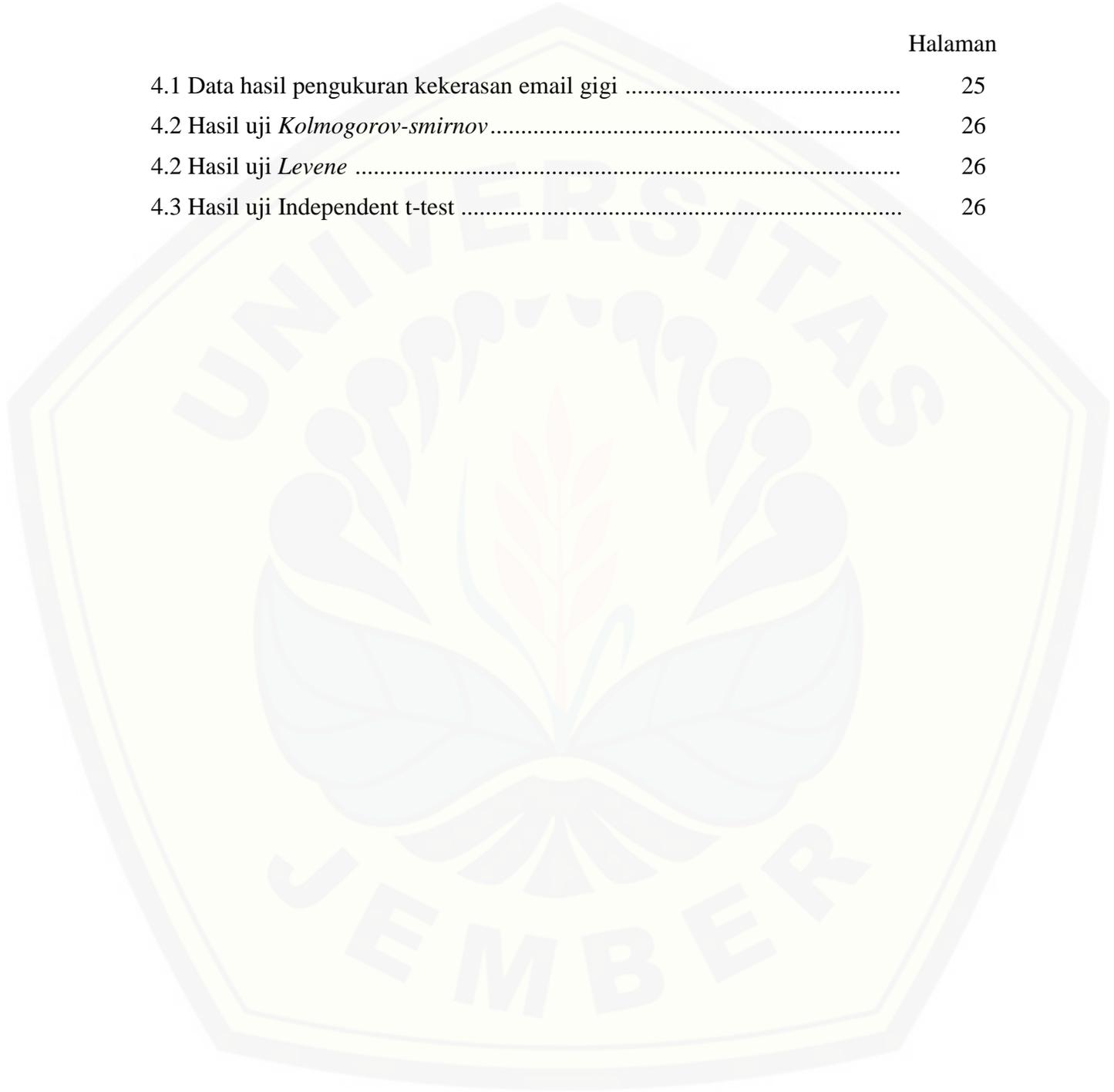
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	14
<b>3.1 Jenis Penelitian</b> .....	14
<b>3.2 Rancangan Penelitian</b> .....	14
<b>3.3 Waktu dan Tempat Penelitian</b> .....	14
<b>3.4 Identifikasi Variabel</b> .....	14
3.4.1 Variabel Bebas .....	14
3.4.2 Variabel Terikat .....	15
3.4.3 Variabel Terkendali .....	15
<b>3.5 Definisi Operasional Penelitian</b> .....	15
3.3.1 Minuman Berkarbonasi .....	15
3.3.2 Kekerasan Permukaan Email Gigi .....	15
3.3.3 Kekasaran Permukaan Email Gigi .....	15
3.3.4 CPP-ACP .....	16
<b>3.6 Sampel Penelitian</b> .....	16
3.6.1 Kriteria Sampel Penelitian .....	16
3.6.2 Besar Sampel Penelitian .....	16
<b>3.7 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	17
3.5.1 Alat Penelitian .....	17
3.5.2 Bahan Penelitian .....	17
<b>3.8 Prosedur Penelitian</b> .....	18
3.6.1 Persiapan Sampel .....	18
3.6.2 Prosedur Pembuatan Saliva Buatan .....	18
3.6.3 Prosedur Perlakuan .....	19
3.6.4 Tahap Pembuatan Spesimen SEM .....	19
3.6.5 Tahap Pembuatan Spesimen Uji Kekerasan .....	20
<b>3.9 Analisis Data</b> .....	21
<b>3.10 Diagram Alur Penelitian</b> .....	22

<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>23</b>
<b>4.1 Hasil dan Analisis Data Penelitian .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2 Pembahasan .....</b>	<b>26</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>30</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>30</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>30</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>31</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>35</b>



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Data hasil pengukuran kekerasan email gigi .....	25
4.2 Hasil uji <i>Kolmogorov-smirnov</i> .....	26
4.2 Hasil uji <i>Levene</i> .....	26
4.3 Hasil uji Independent t-test .....	26



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Pengujian kekerasan Brinell .....	11
2.2 <i>Portable hardness tester</i> TH 120 .....	11
2.3 <i>Scanning Electron Microscope</i> .....	12
3.1 Pemotongan gigi pada bagian <i>Cemento-Enamel Junction</i> .....	18
3.2 Pemotongan mahkota gigi pada arah buko-palatal .....	18
3.3 Perendaman sampel dalam minuman berkarbonasi .....	19
3.4 Pengaplikasian gel CPP-ACP .....	20
3.5 Penyimpanan sampel dalam inkubator .....	20
3.6 Pemotongan mahkota gigi arah mesio-distal .....	20
3.7 Perekatan sampel pada holder .....	21
3.8 Tahap <i>vacum</i> dan <i>coating</i> .....	21
3.9 Pengujian sampel dengan SEM .....	22
4.1 Gambaran kekasaran permukaan email gigi .....	25

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Hasil analisa data .....	35
A.1 Uji Normalitas <i>Kolmogorov-Smirnov</i> .....	35
A.2 Uji Homogenitas <i>Levene-Statistic</i> .....	36
A.3 Uji <i>Independent t-test</i> .....	36
B. Alat dan Bahan Penelitian .....	37
C. Gambar Hasil Penelitian .....	39

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Gaya hidup masyarakat berubah seiring dengan berkembangnya teknologi modern. Mereka memiliki gaya hidup yang lebih bervariasi, hal ini terlihat dari meningkatnya kebiasaan mengonsumsi makanan cepat saji dan minuman ringan. Masyarakat memilih untuk mengonsumsi makanan atau minuman yang sifatnya praktis dan mudah didapat. Perubahan gaya hidup inilah yang menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah konsumsi minuman berkarbonasi (Lussi dan Jaeggi, 2006). Laporan perusahaan industri minuman ringan di Amerika Serikat menunjukkan terjadinya peningkatan produksi sebesar 5 kali lipat setiap tahunnya (Fraunhofer dan Metthew, 2004).

Minuman ringan atau biasa disebut dengan minuman berkarbonasi secara umum memiliki pH yang rendah, sehingga akan berkontribusi dalam terjadinya demineralisasi email gigi (Erickson *et al.*, 2001). Suatu studi menyatakan bahwa minuman berkarbonasi jenis apapun berpotensi dalam terjadinya kerusakan gigi. Waktu perendaman dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit dapat menyebabkan terjadinya demineralisasi email gigi. Hal ini dikarenakan waktu 5 menit ekuivalen dengan waktu yang dibutuhkan untuk mengonsumsi 50 botol minuman berkarbonasi dalam waktu 1 bulan, maka waktu yang dibutuhkan untuk mengonsumsi tiap botolnya adalah 6 detik. Waktu 6 detik tersebut dianalogikan sebagai waktu kontak email gigi dengan minuman berkarbonasi ketika 1 botol minuman dikonsumsi berulang-ulang dalam jangka waktu singkat atau diminum seteguk-seteguk dalam waktu lama. Hal ini dapat meningkatkan resiko terjadinya demineralisasi permukaan email serta menurunnya kekerasan mikro pada permukaan email gigi (Fraunhofer dan Metthew, 2006). Derajat keasaman yang tinggi akan menyebabkan peningkatan kekasaran permukaan gigi (Segundo *et al.*, 2008).

Demineralisasi merupakan suatu keadaan dimana kristal-kristal permukaan gigi mengalami kehilangan mineral, yang disebabkan oleh keterlibatan bakteri atau adanya asam (Mount dan Hume, 2005). Hal ini dapat terjadi apabila email dalam lingkungan pH dibawah 5,5. Demineralisasi secara langsung yang disebabkan oleh kandungan asam dalam suatu jenis minuman ringan, lebih merugikan dibandingkan akibat yang ditimbulkan oleh karena kandungan gula dalam minuman ringan tersebut (Prasetyo, 2005). Demineralisasi yang parah akan menyebabkan terbentuknya spot putih dan apabila terjadi secara terus menerus dalam jangka waktu yang lama akan terjadi kavitas (Miller, 2006).

Karies gigi termasuk dalam suatu penyakit endemik di Indonesia dengan prevalensi yang cukup tinggi. Menurut data yang diperoleh berdasarkan Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2004 menyatakan bahwa tingkat prevalensi penderita gigi berlubang (karies) mulai usia 10 tahun mencapai 90,05% (Asra, 2010). Karies merupakan suatu penyakit pada jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum yang disebabkan oleh adanya aktivitas jasad renik dalam suatu karbohidrat yang diragikan. Karbohidrat yang difermentasikan akan menghasilkan asam dan akan menurunkan pH normal dalam rongga mulut sehingga terjadi demineralisasi pada permukaan gigi (Kidd, 2005). Karies dini ditandai dengan tetap utuhnya permukaan email namun terjadi demineralisasi di dalam email (Mount dan Hume, 2005).

Salah satu cara untuk mengatasi dan mencegah terjadinya karies adalah dengan pemberian bahan antikariogenik yang dapat menghambat perkembangannya dan memicu remineralisasi. Remineralisasi merupakan suatu proses perbaikan kristal hidroksiapatit dengan cara pemberian bahan yang mengandung mineral anorganik pada permukaan gigi yang telah kehilangan mineral sehingga mampu meningkatkan kekerasan dan kekuatan gigi (Kidd, 2005 ; Miller, 2006). Susu merupakan bahan yang hingga kini banyak diteliti dan memiliki efek antikariogenik dengan kandungan protein yang disebut kasein. Kasein termasuk jenis phospo-protein yang terdiri dari asam amino yang berikatan dengan ikatan peptida. Kasein juga mengandung kalsium, fosfor dan magnesium. Menurut Reynolds *et al.* (2009) suatu agen yang mengandung

kalsium dan fosfat dengan atau tanpa adanya turunan kasein dapat mengurangi resiko terjadinya karies. Berdasarkan penelitian tersebut ditemukan bahwa kasein yang merupakan protein dalam susu yang dapat berinteraksi dengan kalsium dan fosfat. Hasil penemuan tersebut kini dikenal dengan *Casein Phospopeptides- Amorphous Calcium Phospate* (CPP-ACP) (Al-Batayneh, 2009).

*Casein Phospopeptides- Amorphous Calcium Phospate* (CPP-ACP) merupakan suatu bahan antikariogenik yang dapat remineralisasi lesi pada permukaan email dan dentin. Pemberian CPP-ACP secara rutin dapat menggantikan kalsium yang hilang akibat proses demineralisasi pada gigi (Shen *et al.*, 2001). *Casein Phospopeptides- Amorphous Calcium Phospate* (CPP-ACP) memiliki kemampuan untuk mengikat kalsium dan fosfat dan menstabilkannya dalam bentuk amorf (non kristal) kemudian berdifusi ke dalam email gigi dan meningkatkan remineralisasi email gigi serta mengurangi terjadinya demineralisasi (Reynolds *et al.*, 2009). Hasil penelitian *in vitro* oleh Kargul di Universitas Marmara Turkey membuktikan bahwa kadar 10% CPP-ACP memiliki efek remineralisasi terhadap email gigi. Efek antikariogenik yang dihasilkan CPP-ACP melalui mekanisme terlokalisasinya ion kalsium dan fosfat pada permukaan gigi. Penelitian oleh Andrini (2012) melihat efek pemberian topikal CPP-ACP pada hari ke- 7, 14 dan 28 terhadap 22 anak dengan *white spot* gigi desidui rahang atas, menunjukkan kadar kalsium, fosfat dan pH saliva tertinggi setelah 28 hari aplikasi.

Berdasarkan uraian di atas penulis tertarik untuk mengetahui nilai kekerasan email dan morfologi permukaan email gigi yang terjadi setelah dilakukan perendaman dalam minuman berkarbonasi dan setelah diberi aplikasi CPP-ACP selama 28 hari. Hasil remineralisasi dilihat melalui uji kekerasan dengan menggunakan *Hardness Tester* (Prasetyo, 2005). Morfologi permukaan email gigi dapat dilihat dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang memiliki kelebihan perbesaran obyektif mencapai sepuluh nanometer (Apriningtyaswati, 2013).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan suatu permasalahan bagaimana efek aplikasi *Casein Phospopeptides - Amorphous Calcium Phospate* (CPP-ACP) terhadap kekerasan dan morfologi permukaan email gigi setelah dilakukan perendaman dalam minuman berkarbonasi menggunakan *Hardness Tester* dan *Scanning Electron Microscope* (SEM) ?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek aplikasi *Casein Phospopeptides - Amorphous Calcium Phospate* (CPP-ACP) terhadap kekerasan dan morfologi permukaan email gigi setelah dilakukan perendaman dalam minuman berkarbonasi menggunakan *Hardness Tester* dan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

## 1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini, diharapkan dapat memberikan manfaat untuk :

1. Memberikan masukan terhadap ilmu pengetahuan tentang kekerasan dan morfologi permukaan email gigi setelah diberi aplikasi *Casein Phospopeptides - Amorphous Calcium Phospate* (CPP-ACP).
2. Memberikan pengetahuan kepada masyarakat mengenai manfaat *Casein Phospopeptides - Amorphous Calcium Phospate* (CPP-ACP) sebagai bahan untuk meningkatkan remineralisasi email gigi.
3. Hasil penelitian yang diperoleh dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Minuman Berkarbonasi

Minuman ringan dengan karbonasi merupakan minuman yang dibuat dengan mengabsorpsikan karbondioksida ke dalam air minum (Chandra, 2009). Konsumsi minuman berkarbonasi baik oleh anak-anak maupun dewasa mengalami peningkatan hingga 40% dalam beberapa dekade terakhir, dengan jumlah konsumsi 250ml/hari. Frekuensi konsumsi minuman berkarbonasi merupakan faktor penting dalam terjadinya karies pada gigi (Fraunhofer dan Matthew, 2006).

Minuman berkarbonasi mengandung air, karbondioksida dan asam asidulan yang terdiri dari asam fosfor, asam sitrat, asam malic, asam tartaric, dan asam organik lain (Fraunhofer dan Matthew, 2006). Minuman berkarbonasi memiliki kandungan air sebesar 90% dan selebihnya merupakan bahan tambahan seperti zat pewarna, zat pemanis, zat pengawet dan gas karbondioksida (Coca cola Company, 2004). Karbondioksida yang diinjeksikan ke dalam air dengan tekanan tinggi akan membentuk asam karbonat, yang akan memberikan rasa asam dan menurunkan pH menjadi sekitar 2,4-3,4 (Holic, 2007; Fraunhofer dan Matthew, 2006). Pada proses pembuatan minuman berkarbonasi, gas karbondioksida dimasukkan ke dalam masing-masing botol dan dimampatkan dengan tekanan tinggi, selanjutnya gas karbondioksida akan diadsorpsi oleh bahan-bahan minuman, kemudian botol disegel (Utami, 2004).

Bahan pemanis yang digunakan dalam minuman berkarbonasi dibagi dalam 2 kategori. Bahan pemanis natural yang terdiri dari gula pasir, gula cair, gula invert cair, sirup jagung dengan kadar fruktosa tinggi dan dekstrosa. Kategori yang lain adalah bahan pemanis sintetik. Satu-satunya bahan pemanis sintetik yang direkomendasikan oleh *Food and Drugs Administration Standard, Amerika Serikat* (FDA) adalah sakarin. Bahan pengawet yang digunakan adalah sodium benzoat dan asam sitrat yang berfungsi untuk mencegah fermentasi (Chandra, 2009).

Adanya asam sitrat dan asam fosfat hingga pH 2 dapat menyebabkan terjadinya demineralisasi pada email gigi (Tim Ilmu Pangan UGM, 2003). Suatu studi menyatakan bahwa minuman berkarbonasi jenis apapun memiliki potensial yang sangat besar dalam terjadinya kerusakan gigi. Waktu perendaman dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit dapat menyebabkan terjadinya demineralisasi email gigi. Hal ini dikarenakan, waktu 5 menit tersebut ekuivalen dengan waktu yang dibutuhkan untuk mengonsumsi 50 botol minuman berkarbonasi dalam waktu 1 bulan, maka waktu yang dibutuhkan untuk mengonsumsi tiap botolnya adalah 6 detik. Waktu 6 detik tersebut dianalogikan sebagai waktu kontak email dengan minuman berkarbonasi ketika 1 botol minuman dikonsumsi berulang-ulang dalam jangka waktu singkat atau diminum seteguk-seteguk dalam waktu lama. Hal ini dapat meningkatkan resiko terjadinya demineralisasi permukaan email serta menurunnya kekerasan mikro pada permukaan email gigi (Fraunhofer dan Matthew, 2006).

## 2.2 Email

Email merupakan jaringan keras yang terdiri dari 97% mineral anorganik, 1,5% material organik dan 1,5% air. Mineral anorganik yang mendominasi adalah kalsium dan fosfat yang akan membentuk kristal hidroksiapatit. Hidroksiapatit merupakan bahan anorganik penyusun jaringan keras yang terdapat pada tendon, tulang dan gigi yang berfungsi untuk memberi stabilisasi, kekerasan serta proteksi (Alauddin, 2004). Kristal hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) terdiri dari  $\text{PO}_4$  (55%), Ca (37%),  $\text{CO}_3$  (3,5%), Na (0,5%) yang berbentuk prisma heksagonal. Prisma tersebut diperkirakan berdiameter 4-7  $\mu\text{m}$  pada gigi sulung dan 6-8  $\mu\text{m}$  pada gigi permanen, dan terdapat matriks protein didalamnya (Ross *et al.*, 2006).

Email gigi memiliki ketebalan yang berbeda pada gigi sulung dan gigi permanen. Gigi sulung memiliki ketebalan email 0,5-1 mm dan pada gigi permanen memiliki ketebalan 1-2 mm. Ketebalan email pada gigi insisiv 2 mm, pada gigi premolar mencapai 2,3-2,5 mm, sedangkan pada gigi molar 2,5-3 mm (Sabel, 2012).

Kecepatan melarutnya email dipengaruhi oleh derajat keasaman (pH), konsentrasi asam, waktu melarut dan adanya ion sejenis kalsium, dan fosfat. Derajat keasaman (pH) berperan dalam proses terlarutnya email gigi karena pH yang rendah akan meningkatkan ion hidrogen yang akan merusak kristal hidroksiapatit (Dawes, 2003). Email bersifat permeable terhadap ion-ion dan molekul-molekul yang berasal dari makanan dan minuman yang dikonsumsi. Saat berkontak dengan asam, sebagian atau keseluruhan mineral email akan larut sehingga menurunkan kekerasan permukaan gigi. Kristal hidroksiapatit  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  dalam suasana asam akan larut menjadi  $Ca^{2+}$ ;  $PO_4^{3-}$  dan  $OH^-$ . Ion  $H^+$  akan beraksi dengan gugus  $PO_4^{3-}$  atau  $OH^-$  membentuk  $HPO_4^{2-}$ ;  $H_2PO_4^-$  atau  $H_2O$ , sedangkan yang kompleks terbentuk  $CaPO_4$  dan  $CaHPO_4$  (Prasetyo, 2005).

### 2.2.1 Demineralisasi dan Remineralisasi Email

Demineralisasi merupakan proses hilangnya mineral-mineral pada email gigi. Faktor yang dapat menyebabkan terjadinya demineralisasi email antara lain makanan dan minuman yang mengandung asam. Suasana asam tersebut dapat melarutkan hidroksiapatit pada email gigi (Aramintha, 2004). Apabila demineralisasi terjadi secara terus-menerus dalam periode yang lama, maka akan menyebabkan terjadinya lesi karies dini (Alauddin, 2004).

pH normal saliva adalah sekitar 5,5-6,5. pH dibawah 5,5 termasuk dalam lingkungan yang rentan terhadap karies gigi. Ketika pH dalam rongga mulut turun dibawah pH normal akibat paparan asam yang berkepanjangan, akan menyebabkan terjadinya demineralisasi email dengan cepat. Fermentasi sukrosa, fruktosa dan beberapa karbohidrat oleh bakteri menjadi asam dapat menyebabkan pH saliva menjadi rendah dan kemudian membentuk plak pada gigi. Plak tersebut akan menyebabkan terjadinya demineralisasi dan kemudian akan terjadi erosi pada gigi (Frauhofer dan Matthew, 2006). Kondisi asam pada minuman berkarbonasi yang mencapai pH 2,4 akan menyebabkan terlarutnya kalsium dan fosfat email. Jika ion-

ion saliva gagal untuk mengendapkannya, maka akan berlangsung proses karies (Sutjiati, 2000).

Hasil penelitian mikroskopis oleh Moreno dan Zahradnik (dalam Sutjiati, 2000) menyatakan bahwa mineral yang hilang pada proses demineralisasi terjadi pertama kali pada bagian interprismatik email, kemudian berlanjut ke batas tepi yang pada akhirnya terjadi pada prisma email. Demineralisasi email karena erosi menyebabkan terbentuknya *microspace* (saluran mikro) dengan kedalaman 20 $\mu$ m-50 $\mu$ m. Ukuran tersebut akan menjadi lebih besar karena tepi prisma email larut sehingga mengurangi ukuran kristal apatit atau bahkan mengurangi seluruh kristal email (Sutjiati, 2000).

Pada keadaan pH kritis (pH dibawah 5), ion kalsium dan fosfat akan menstimulasi buffer pada saliva hingga pH kembali normal (pH netral). Kemampuan saliva untuk meningkatkan kembali pH yang rendah tersebut dapat berlangsung selama setengah hingga 2 jam tergantung dari faktor diet yang dikonsumsi (Alauddin, 2004). Kalsium dan fosfat yang terdapat pada saliva dapat mencegah terjadinya demineralisasi dan dapat membentuk kembali garam kristal hidroksiapatit pada email gigi. Adanya kalsium dan fosfat dalam jumlah yang cukup akan menunjang terjadinya proses remineralisasi pada email gigi (Sibarani, 2011).

Remineralisasi merupakan kebalikan dari demineralisasi, dimana pada remineralisasi terjadi penempatan kembali garam-garam mineral ke email gigi. Remineralisasi dapat terjadi jika pH saliva dalam rongga mulut kembali normal serta terdapat ion kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dan ion fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) dalam rongga mulut. Saliva menaikkan kembali pH asam dalam rongga mulut secara perlahan sehingga ion fosfat dan ion kalsium dapat membentuk kristal hidroksiapatit dan kemudian menutupi daerah yang terdemineralisasi (Sibarani, 2011).

### **2.3 Casein Phosopeptides – Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP)**

*Casein* merupakan protein utama yang berasal dari susu sapi jumlahnya sekitar 80% dari total protein dalam susu sapi (Aimutis, 2004). *Casein* termasuk jenis

phospho-protein, terdiri dari beberapa unit asam amino yang terikat dengan ikatan peptida. Didalamnya terdiri dari zat-zat organik dan zat-zat anorganik seperti kalsium, fosfor, dan magnesium. *Casein phospho-peptide* (CPP) memiliki suatu kemampuan untuk mengikat dan menstabilkan ion kalsium dan fosfat dalam larutan, serta mengikatnya dalam plak pada email gigi. *Casein phospho-peptide* (CPP) menjaga kalsium dan fosfat dalam keadaan amorf atau tidak berbentuk sehingga dapat memasuki email gigi dengan cara berdifusi. Konsentrasi yang tinggi dari ion kalsium dan fosfat dalam plak gigi telah banyak diteliti dan terbukti dapat mengurangi resiko demineralisasi dan membantu remineralisasi email gigi (Al-Batayneh, 2009).

*Casein Phosphopeptides – Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP) pertama kali ditemukan oleh Prof Eric Reynolds di Dental Science di University of Melbourne di Australia. *Casein Phosphopeptides – Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP) merupakan produk yang tidak mengandung laktosa, karbohidrat dalam susu yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan serta tidak mengandung fluor sehingga tidak menimbulkan fluorosis, serta mampu menghambat terjadinya demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi pada gigi (Al-Batayneh, 2009). Penelitian oleh Andrini (2012) melihat efek pemberian topikal CPP-ACP pada hari ke- 7, 14 dan 28 terhadap 22 anak dengan *white spot* gigi desidui rahang atas dan semuanya menunjukkan positif terjadinya remineralisasi pada email gigi, dengan kadar kalsium, fosfat dan pH saliva tertinggi setelah 28 hari aplikasi.

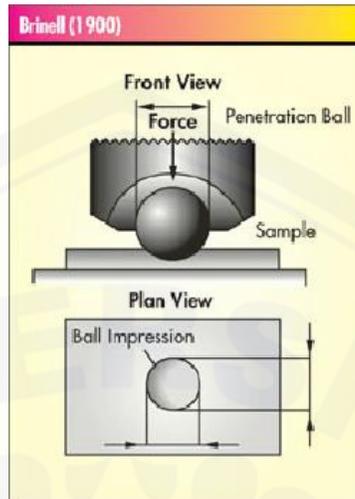
Mekanisme antikariogenik CPP-ACP melalui penggabungan nano-kompleks ion kalsium dan fosfat yang berbentuk amorf menjadi plak ke permukaan email. *Casein phospho-peptide* (CPP) memiliki peran sebagai pembawa *amorphous calcium-phosphate* (ACP). Kalsium dan fosfat yang larut pada permukaan gigi, melokalisasi ACP sebagai buffer pH plak, sehingga mengurangi demineralisasi email gigi dan meningkatkan remineralisasi (Rose, 2000). *Casein phospho-peptide* (CPP) dapat menghasilkan kalsium dan fosfat yang kemudian membentuk kompleks koloid melalui residu *phosphosheryl*. Ikatan CPP dengan ACP dapat mempertahankan

bentuk ion kalsium dan fosfat sehingga terjadi pengendapan. *Casein Phosphopeptides – Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP)* akan meningkatkan kadar ion kalsium dan fosfat dalam plak, menyediakan kalsium dalam jumlah besar dalam plak dan memperlambat difusi kalsium bebas. Hal ini dimungkinkan untuk mengurangi kehilangan mineral selama fase kariogenik dan memberikan potensi untuk proses remineralisasi (Rose, 2000).

#### **2.4 Kekerasan Permukaan**

Kekerasan adalah suatu sifat yang digunakan untuk memperkirakan ketahanan suatu bahan dan kemampuannya untuk mengabrasi struktur antagonisnya. Dalam metalurgi dan kebanyakan disiplin ilmu lainnya, kekerasan adalah ketahanan terhadap indentasi. Indentasi dihasilkan pada permukaan suatu bahan dari gaya yang diaplikasikan dari ujung tajam atau partikel abrasif yang berasal dari interaksi sejumlah sifat. Sifat-sifat yang berhubungan dengan kekerasan suatu bahan adalah kekuatan, batas kesetimbangan dan kelenturan (Annusavice, 2004).

Ada beberapa jenis uji kekerasan permukaan, salah satunya adalah uji kekerasan Brinell. Metode uji kekerasan yang diajukan oleh J.A. Brinell pada tahun 1900 ini merupakan uji kekerasan lekukan yang pertama kali banyak digunakan serta disusun pembakuannya. Uji ini berupa pembentukan lekukan pada permukaan menggunakan logam baja yang ditekan dengan beban tertentu. Pengujian kekerasan dengan metode Brinell bertujuan untuk menentukan kekerasan suatu material dalam bentuk daya tahan material terhadap bola baja (indentor) yang ditekankan pada permukaan material uji tersebut (spesimen). Idealnya, pengujian Brinell diperuntukkan untuk material yang memiliki permukaan yang kasar. Indentor Brinell biasanya terbuat dari karbida tungsten, berbentuk bola dengan diameter 10mm, 5mm, 2,5mm, dan 1mm yang merupakan diameter bola standar internasional (Alat Uji, 2013).



Gambar 2.1. Pengujian Kekerasan Brinell (Sumber : Alat uji, 2013)



Gambar 2.2. *Portable Hardness Tester* TH120 (Sumber : Alat uji, 2013)

## 2.5 *Scanning Electron Microscope (SEM)*

*Scanning Electron Microscope (SEM)* merupakan mikroskop elektron yang mempunyai keunggulan dapat memperbesar benda hingga sepuluh nanometer. Sistem alat ini menggunakan elektrostatis dan elektromagnetik yang digunakan untuk mengontrol pencahayaan dan tampilan gambar serta memiliki kemampuan pembesaran objek dan resolusi yang lebih baik dibandingkan dengan mikroskop cahaya (Federation Equestre Internationale, 2010).



Gambar 2.3. *Scanning Electron Microscope* (Sumber: JEOL, 2013)

*Scanning Electron Microscope* (SEM) didesain untuk mengamati permukaan objek solid secara langsung dan memiliki resolusi sebesar 1- 10 nm. Kombinasi dari perbesaran yang tinggi, *depth of field* yang besar, resolusi yang baik, kemampuan untuk mengetahui komposisi informasi kristalografi, membuat SEM banyak digunakan dalam keperluan penelitian dan industri (Prasetyo, 2005). *Scanning Electron Microscope* (SEM) dapat digunakan untuk melihat morfologi permukaan email gigi, yang merupakan suatu gambaran mengenai struktur permukaan email (Apriningtyaswati, 2013).

*Scanning Electron Microscope* (SEM) terdiri dari sebuah senapan elektron (*electron gun*) yang memproduksi berkas elektron yang akan dilewatkan pada beberapa lensa elektromagnetik untuk menghasilkan gambaran berukuran kurang dari 10 nm pada sampel dan ditampilkan dalam bentuk film fotografi atau ke dalam tabung layar. *Scanning raster* mendefleksikan berkas elektron untuk mengamati permukaan sampel sebelum melalui lensa elektromagnetik terakhir (Anggraeni, 2008). Hasil *scan* ini tersinkronasi dengan tabung sinar katoda dan diproses untuk menghasilkan gambar (Hafner, 2007). Tingkat kontras yang tampak pada tabung

sinar katoda timbul karena hasil refleksi yang berbeda-beda dari sampel. Sewaktu berkas elektron mengenai permukaan sampel, sejumlah elektron direfleksikan sebagai *backscattered electron* (BSE) dan yang lain membebaskan energi rendah *secondary electron* (SE) (Anggraeni, 2008).

Elektron-elektron BSE dan SE yang direfleksikan dan dipancarkan sampel dikumpulkan oleh sebuah *scintillator* yang memancarkan seberkas cahaya pada elektron yang datang kemudian diubah menjadi sinyal listrik dan diperbesar oleh *photomultiplier*. Sinyal tersebut kemudian dikirim ke bagian *grid* tabung sinar katoda (Anggraeni, 2008). Peningkatan pencitraan sampel dapat diperjelas dengan menggunakan *coating*. *Coating* merupakan suatu tahap untuk melapisi bagian permukaan sampel agar sampel lebih konduktif untuk dilihat dalam SEM (Nuzulia, 2013). Beberapa bahan yang dapat digunakan sebagai *coating* adalah emas, palladium (emas putih), platinum, kromium, dan iridium (Hoflinger, 2013).

## 2.6 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah aplikasi CPP-ACP pada permukaan email gigi setelah direndam dalam minuman berkarbonasi dapat meningkatkan kekerasan email gigi dan menurunkan kekasaran permukaan.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Penelitian eksperimental laboratoris merupakan penelitian yang ditujukan untuk mencari adanya hubungan sebab akibat dengan memberikan intervensi atau memanipulasi variabel satu atau lebih kelompok dan mengendalikan faktor yang dapat mempengaruhi hubungan sebab akibat kemudian membandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak dimanipulasi atau diintervensi aktif (Notoatmodjo, 2005).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah *The Post Test Only Control Group Design*, yaitu dengan melakukan pengukuran atau observasi setelah diberikan perlakuan (Notoatmodjo, 2005). Dalam penelitian ini yaitu dengan mengukur kekerasan dan melihat kekasaran permukaan email gigi yang telah direndam dalam minuman berkarbonasi kemudian diaplikasi CPP-ACP (*casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate*).

### 3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi, Laboratorium Desain dan Uji Bahan Fakultas Teknik Mesin Universitas Jember dan Laboratorium Sentral Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang pada bulan Januari-Februari 2015.

### 3.4 Identifikasi Variabel

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah

- a. Minuman berkarbonasi (Coca Cola, produksi PT. Coca cola Bottling Indonesia)
- b. Gel CPP-ACP (*Casein Phosphopeptide - Amorphous Calcium Phosphat*).

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kekerasan dan morfologi permukaan email gigi.

#### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah

- a. Volume minuman berkarbonasi (5ml Coca cola)
- b. Lama perendaman dalam minuman berkarbonasi (5 menit)
- c. Lama aplikasi cpp-acp pada permukaan email gigi (28 hari)
- d. Volume cpp-acp (0,02 ml)
- e. Gigi premolar rahang atas

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

#### 3.5.1 Minuman Berkarbonasi

Minuman berkarbonasi adalah suatu minuman yang telah melalui proses karbonasi. Pada penelitian ini digunakan minuman berkarbonasi Coca cola yang diproduksi oleh PT. Coca Cola Bottling Indonesia. Perendaman dalam minuman berkarbonasi dilakukan selama 5 menit.

#### 3.5.2 Kekerasan Permukaan Email Gigi

Kekerasan permukaan adalah kemampuan email gigi untuk menerima suatu beban atau tekanan. Indentor yang digunakan dalam penelitian ini adalah indentor *Brinell Hardness* berupa bola baja dengan diameter 2 mm yang di tekan pada spesimen selama 10-30 detik. Uji ini akan menghasilkan angka yang menunjukkan nilai kekerasan permukaan spesimen.

### 3.5.3 Morfologi Permukaan Email Gigi

Morfologi permukaan email gigi merupakan suatu gambaran mengenai struktur permukaan yang nampak pada email gigi. Perubahan morfologi permukaan email gigi pada penelitian ini dipengaruhi oleh proses demineralisasi akibat paparan dari minuman berkarbonasi. Morfologi permukaan email gigi dapat dilihat dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

### 3.5.4 CPP-ACP

*Casein Phosphopeptides – Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP) merupakan suatu bahan antikariogenik yang mengandung kalsium dan fosfat yang dapat remineralisasi lesi pada permukaan email gigi. Jenis CPP-ACP yang digunakan berbentuk gel buatan pabrik. Cara pemakaian gel ini adalah dengan dioles selapis pada gigi secara topikal.

## 3.6 Sampel Penelitian

### 3.6.1 Kriteria sampel penelitian

- a. gigi premolar rahang atas (P1) yang masih utuh.
- b. tidak terdapat karies pada mahkota gigi.
- c. tidak terdapat lesi *white spot*
- d. tidak terdapat karang gigi atau stain pada mahkota gigi.

### 3.6.2 Besar sampel penelitian

Penentuan besar sampel menggunakan rumus jumlah sampel minimum menurut Daniel (2005).

$$n = \frac{Z^2 \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

$n$  = Besar sampel minimum

$Z^2$  = Nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu ( $\alpha$ ); jika  $\alpha = 0.05$ , maka nilai Z adalah  $Z = 1.96$  (2-tailed) dan  $Z = 1.64$  (1-tailed)

$\sigma$  = Standart deviasi (SD) penelitian sejenis

$\alpha$  = Kesalahan yang masih ditoleransi

P = Keterpercayaan penelitian (95%)

Pada penelitian ini nilai  $\sigma$  diasumsikan sama dengan nilai  $d$  ( $\sigma = d$ ), hal ini dikarenakan karena nilai  $\sigma^2$  jarang sekali diketahui sehingga harus menduganya.

Masalah ini dapat dihilangkan dengan mendefinisikan  $d$  diucapkan dalam  $\sigma$ .

Maka hasil perhitungan besar sampel didapatkan besar sampel sebagai berikut :

$$n = \frac{(1.96)^2 \cdot d^2}{d^2}$$

$$n = (1.96)^2$$

$$n = 3.84 \approx 4$$

### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian

- a. *diamond disc*
- b. *minigrinder*
- c. pot obat
- d. chip blower
- e. gelas ukur
- f. *petridish*
- g. pinset
- h. inkubator
- i. *Scanning Electron Microscope (SEM)*
- j. pH meter
- k. *Mini sputter coater SC7620 (Emitech)*
- l. *Portable Hardness Tester TH120*
- m. *Microbrush*

### 3.7.2 Bahan Penelitian

- a. larutan salinee
- b. aquades steril
- c. gigi premolar rahang atas
- d. minuman berkarbonasi (coca cola )
- e. Gel GC. *Tooth Mousse* yang mengandung CPP-ACP
- f. saliva buatan pH 7

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Persiapan Sampel

- a. Mempersiapkan sampel yaitu 4 gigi P1 rahang atas
- b. Memotong gigi bagian *cemento – enamel junction* untuk memisahkan bagian akar dan mahkota gigi dengan menggunakan *separating disc*



Gambar 3.1 Pemotongan gigi pada bagian *Cemento-Enamel Junction*

- c. Bagian mahkota gigi yang telah dipisahkan dari akar gigi dipotong arah buko-palatal sehingga membagi mahkota gigi menjadi dua bagian yaitu potongan mesial dan distal



Gambar 3.2 Pematangan mahkota gigi pada arah buko-palatal

- d. Sampel dicuci dengan menggunakan akuades dan disimpan dalam larutan saline pada pot obat dengan suhu kamar
- e. Setiap dua hari sekali larutan saline diganti sampai saat penelitian dengan tujuan untuk menjaga kelembapan dari gigi agar tidak mengalami perubahan pada saat penelitian
- f. Jika sampel akan digunakan, sampel dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan akuades steril
- g. Sampel kemudian dibagi dalam dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

### 3.8.2 Prosedur Pembuatan Saliva Buatan

Bahan yang digunakan dalam pembuatan saliva buatan yaitu : 36 g NaCl, 1,6 g KCl, 0,96 g CaCl<sub>2</sub>, 0,8 g NaHCO<sub>3</sub> dan 400 cc air destilasi dimasukkan dalam tabung erlenmeyer dan dilarutkan hingga semua bahan menjadi *homogen*. pH yang didapat disesuaikan hingga mencapai 7 (Dikri *et al.*, 2003).

### 3.8.3 Prosedur Perlakuan

Sampel dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan perlakuan.

#### a. Kelompok kontrol

Sampel direndam dalam 5 ml minuman berkarbonasi pada pot obat selama 5 menit kemudian dibilas menggunakan akuades dan dikeringkan dengan menggunakan chip blower. Sampel direndam dalam saliva buatan selama 28 hari

dan diganti setiap 24 jam sekali. Penyimpanan diletakkan di dalam inkubator dengan suhu 37°C.



Gambar 3.3 Perendaman sampel dalam minuman berkarbonasi

b. Kelompok perlakuan

Sampel direndam dalam 5 ml minuman berkarbonasi pada pot obat selama 5 menit kemudian dibilas dengan menggunakan akuades dan dikeringkan dengan chip blower. Sampel diaplikasi selapis gel CPP-ACP sebanyak 0,02 ml dengan menggunakan *microbrush* secara rutin setiap hari selama 28 hari untuk mendapatkan hasil remineralisasi yang efektif. Selama pemberian CPP-ACP, sampel direndam dalam saliva buatan pada pot obat dan diganti setiap 24 jam sekali. Penyimpanan diletakkan dalam inkubator dengan suhu 37°C.



Gambar 3.4 Pengaplikasian gel *Casein Phosopeptides – Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP)



Gambar 3.5 Penyimpanan sampel dalam inkubator

- c. Pada hari ke 29, sampel diambil dan dicuci bersih di bawah air mengalir.
- d. Sampel kemudian dipotong dengan menggunakan *separating disc* untuk persiapan pembuatan spesimen uji kekerasan dan uji SEM.



Gambar 3.6 Pemotongan mahkota gigi arah mesio-distal

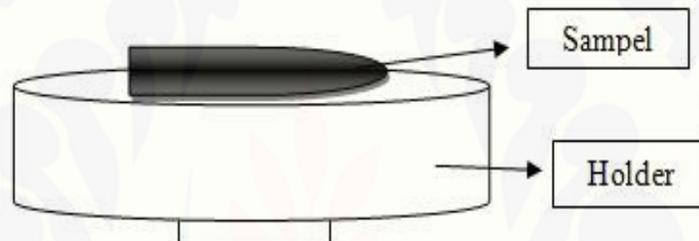
#### 3.8.4 Tahap Pembuatan Spesimen Uji Kekerasan

- a. Hasil potongan sampel dicuci bersih dengan menggunakan akuades steril kemudian dikeringkan dengan menggunakan chip blower.
- b. Mesin uji kekerasan di persiapkan
- c. Spesimen diletakkan di bawah indentor bola yang berdiameter 2 mm
- d. Indentor ditekan pada bagian 1/3 tengah permukaan bukal gigi kemudian ditunggu 10 hingga 30 detik, kemudian tekanan indentor dibebaskan atau dilepaskan dari spesimen
- e. Hasil tekanan kekerasan spesimen akan muncul pada layar yang terdapat pada alat uji (dalam satuan HBN)

### 3.8.5 Tahap Pembuatan Spesimen SEM

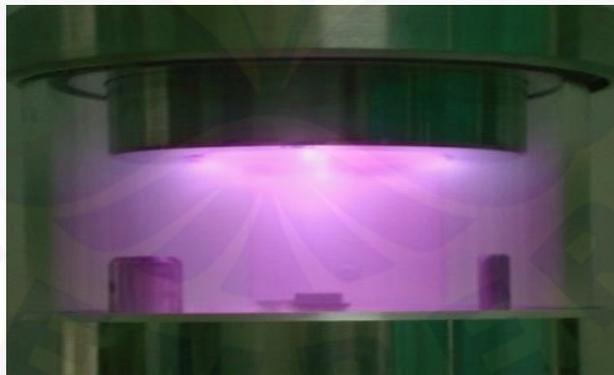
#### a. Persiapan Spesimen SEM

- 1) Cuci sampel dan bersihkan seluruh permukaan yang akan dilihat.
- 2) Keringkan sampel dengan menggunakan chip blower kemudian dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 30°C selama 2x 24 jam.
- 3) Setelah 2x24 jam sampel diambil dan siap untuk dianalisis menggunakan SEM.
- 4) Sampel yang akan diteliti direkatkan pada holder dengan menggunakan karbon tip agar spesimen menempel dan tidak jatuh ketika dimasukkan dalam unit SEM.
- 5) Sampel yang diletakkan pada holder dalam keadaan rata atau sejajar.



Gambar 3.7 Perekatan sampel pada holder dalam keadaan rata

- 6) Kemudian sampel tersebut dimasukkan ke dalam *mini sputter coater* untuk tahap vakum dan *coating*.



Gambar 3.8 Sampel dimasukkan dalam *mini sputter coater*

#### b. Proses pengambilan gambar menggunakan SEM

- 1) Sampel yang telah *dicoating* dimasukkan dalam unit SEM



Gambar 3.9 Sampel dimasukkan dalam unit SEM

- 2) Dilakukan pengamatan pada permukaan sampel yang tidak diberi perlakuan dan yang telah diberi perlakuan. Apabila gambar yang diinginkan telah didapatkan, lakukan pengambilan gambar dengan pembesaran yang sesuai.
- 3) Gambar yang diambil merupakan gambaran pada permukaan email gigi.

### 3.9 Analisis Data

Hasil uji kekerasan akan menghasilkan data kuantitatif dan dilakukan analisa statistik dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Levene statistic Test*, kemudian dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu *Independent t-test*. Hasil uji SEM akan menghasilkan data kualitatif dengan analisa deskriptif.

**3.10 Diagram Alur Penelitian**

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Hasil Penelitian dan Analisa Data

Penelitian tentang efek aplikasi *Casein Phospho-peptide Amorphous Calcium Phosphat* (CPP-ACP) terhadap kekerasan dan morfologi permukaan email gigi setelah direndam dalam minuman berkarbonasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi, Laboratorium Desain dan Uji Bahan Fakultas Teknik Mesin Universitas Jember dan Laboratorium Sentral Fakultas MIPA Universitas Malang pada bulan Januari - Februari 2015. Besar sampel dalam penelitian ini sebanyak 8 spesimen yang terbagi dalam 2 kelompok. Kelompok 1 adalah kelompok kontrol, sampel direndam dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit kemudian direndam dalam saliva buatan tanpa diberi CPP-ACP dan kelompok 2 adalah kelompok yang diberi perlakuan, yaitu sampel direndam dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit kemudian diberi CPP-ACP dan direndam dalam saliva buatan. Dilakukan uji menggunakan *Hardness Tester TR 220* dan *Scanning Electron Microscope* (SEM) untuk mengetahui kekerasan dan morfologi permukaan email gigi. Hasil penelitian yang didapatkan disajikan dalam Tabel 4.1 dan diperoleh nilai kekerasan dengan satuan *Hardness Brinnel Number* (HBN).

Tabel 4.1. Hasil pengukuran kekerasan pada masing-masing kelompok sampel (dalam HBN)

SAMPSEL	Nilai Kekerasan	
	KONTROL	PERLAKUAN
1	113	157
2	101	212
3	99	142
4	88	127
Rata-rata ± SD	100,25 ± 10.24	159,5 ± 37.08

Keterangan :

SD : *Standard Deviasi*

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui distribusi data. Hasil uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai probabilitas 0,985 ( $p > 0,05$ ).

Tabel 4.2 Hasil Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* pengukuran kekerasan email gigi

		Kekerasan Email Gigi
N		8
Normal Parameters	Mean	129.8750
	Std. Deviation	40.46317
Kolmogorov-Smirnov Z		0,457
Asymp. Sig. (2-tailed)		0,985

Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui keseragaman sampel. Hasil uji Levene menunjukkan data yang homogen dengan nilai 0,132 ( $p > 0,05$ ).

Tabel 4.3 Hasil uji *Levene* pengukuran kekerasan email gigi

<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	Sig.
3.039	1	6	0,132

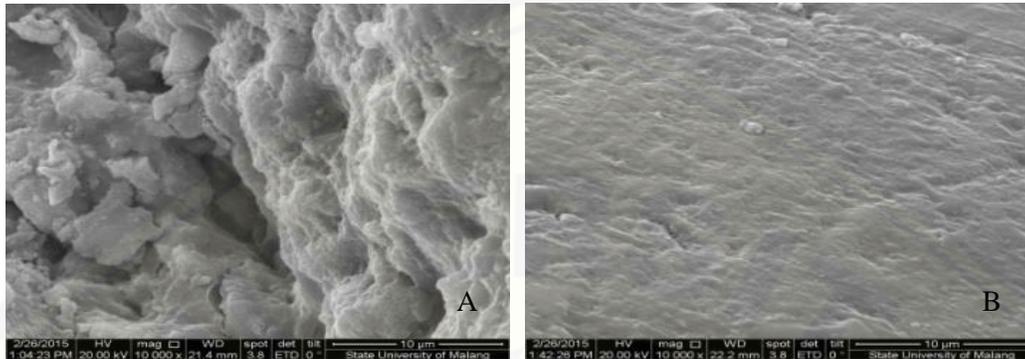
Selanjutnya dilakukan uji parametrik *Independent t-test* (Tabel 4.4) untuk mengetahui adanya perbedaan nilai rerata kekerasan email gigi antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Tabel 4.4 Hasil uji *Independent t-test* pengukuran kekerasan email gigi

	Sig.
<i>Independent T Test</i>	0,022

Berdasarkan hasil uji *Independent T Test*, didapatkan nilai sebesar 0,022 ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat adanya perbedaan yang bermakna nilai kekerasan email gigi antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Gambaran morfologi permukaan email gigi dapat dilihat dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM).



Gambar 4.1 Gambaran morfologi permukaan email gigi pada kelompok kontrol (A) dan kelompok perlakuan (B) dengan perbesaran 10.000x.

Berdasarkan hasil foto *Scanning Electron Microscope*, didapatkan perbedaan pada gambaran morfologi permukaan email gigi antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Pada kelompok perlakuan tampak gambaran yang lebih halus dibandingkan dengan kelompok kontrol dimana terdapat porositas yang sedikit pada permukaan emailnya. Pada kelompok kontrol didapatkan gambaran permukaan email yang lebih kasar dan terdapat banyak porositas yang dalam. Hasil SEM menunjukkan di sekitar prisma email rusak dan membentuk bentuk seperti sarang tawon (*honey comb*). Keseluruhan gambaran yang tampak pada setiap lapang pandang didapatkan bahwa pada bagian oklusal yang terlihat paling kasar dibandingkan dengan bagian bukal dan servikal.

### 3.2 Pembahasan

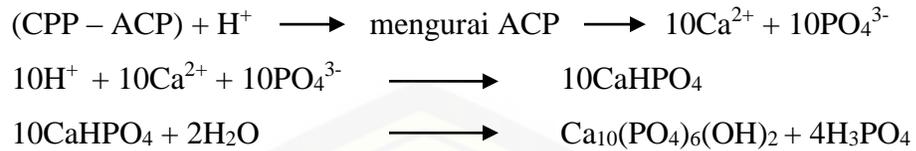
Gambaran morfologi permukaan email gigi pada penelitian ini ditunjukkan oleh hasil *Scanning Electron Microscope* (SEM). Pada kelompok kontrol didapatkan gambaran permukaan dengan porositas yang banyak pada setiap lapang pandang, baik pada permukaan oklusal, bukal maupun servikal. Hal ini dapat dikarenakan oleh paparan minuman berkarbonasi yang memiliki pH 2,3. Penelitian oleh Zhou *et al.*

(2012) menyatakan bahwa perubahan morfologi pada permukaan email gigi tersebut dapat dipengaruhi oleh derajat keasaman serta lama paparan asam. Hal ini didukung oleh penelitian Utami (2004) dimana perendaman dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit mengakibatkan terbentuknya mikroporositas pada bagian yang lebih dalam, sehingga terjadi peningkatan kekasaran permukaan email gigi.

Gambaran morfologi permukaan email pada setiap lapang pandang menunjukkan adanya bentukan seperti sarang tawon (*honey comb*) yang disebabkan oleh terlarutnya prisma email. Paparan asam selama 5 menit pada email gigi akan menembus selubung prisma email yang tidak terkalsifikasi, kemudian akan merusak mineral di sekitar prisma email (*prisma core*). Bagian oklusal, prisma dapat berpilin (*gnarled email*) dan mudah patah atau rusak, sehingga adanya asam tersebut akan menghasilkan permukaan yang kasar dengan porositas yang banyak (Amaral *et al.*, 2014).

Pada kelompok perlakuan yang diberi CPP-ACP menunjukkan gambaran yang halus, terjadi penurunan kekasaran permukaan email gigi serta peningkatan kekerasan email gigi. *Casein Phosopeptides – Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP) yang diaplikasikan memiliki kemampuan untuk mengikat dan menstabilkan ion kalsium dan fosfat dalam larutan, serta mengikatnya dalam plak dan email gigi. Apabila ion kalsium dan fosfat dalam gigi sudah cukup tergantikan, maka kelebihan akan berdifusi ke lingkungan. *Casein Phosopeptides – Amorphous Calcium Phosphate* (CPP-ACP) bertindak sebagai reservoir ion kalsium dan fosfat, serta membantu mempertahankan keadaan jenuh mineral email, sehingga dapat mengurangi demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi (Al- Batayneh, 2009).

Adanya paparan asam yang mengandung ion hidrogen ( $H^+$ ) akan mengurai hidroksiapatit sehingga terjadi demineralisasi pada email. Mekanisme remineralisasi oleh CPP-ACP adalah dengan terurainya ACP pada lingkungan menjadi molekul  $CaHPO_4$  yang akan berdifusi kedalam email dalam bentuk ion  $Ca^{2+}$  dan  $PO_4^{3-}$  dan membentuk hidroksiapatit (Reynolds *et al.*, 2009).



Molekul  $10\text{CaHPO}_4$  berdifusi ke dalam email gigi dan berikatan dengan  $2\text{H}_2\text{O}$  yang ada di dalam email menjadi  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2 + 4\text{H}_3\text{PO}_4$ . Selain hidroksiapatit, dalam email juga terbentuk  $\text{H}_3\text{PO}_4$  yang akan berdifusi keluar email, sehingga menurunkan konsentrasi asam dalam email dan menjadi buffer saliva (Reynolds *et al.*, 2009). Di luar email,  $4\text{H}_3\text{PO}_4$  terurai menjadi  $4\text{H}^+ + 4\text{H}_2\text{PO}_4^-$  yang menyebabkan bertambahnya jumlah fosfat dalam saliva buatan dari hari ke hari. Tingginya kadar ion fosfat dalam saliva diharapkan dapat meningkatkan remineralisasi email. Andrini (2012) melakukan penelitian tentang pengaruh aplikasi topikal CPP-ACP terhadap 22 anak dengan *white spot* gigi desidui rahang atas menyimpulkan bahwa semakin sering aplikasi topikal CPP-ACP maka akan semakin tinggi kadar kalsium, fosfat dan pH saliva.

Remineralisasi dapat terjadi apabila pH netral, terdapat ion kalsium dan fosfat yang cukup pada lingkungan. Ion kalsium dan fosfat akan menghambat proses penguraian hidroksiapatit dan menyebabkan terjadinya *rebuilding* atau pembangunan kembali kristal hidroksiapatit yang terlarut (Sintawati *et al.*, 2008). Ion kalsium dan fosfat dalam lingkungan sekitar email akan mempengaruhi derajat saturasi (derajat kejenuhan) hidroksiapatit setelah berada dalam mikroporositas (Heyde dan Moany, 2012). Semakin tinggi konsentrasinya maka akan semakin tinggi derajat saturasinya, sehingga akan mempercepat penutupan mikroporositas email (Godoy dan Hicks, 2008).

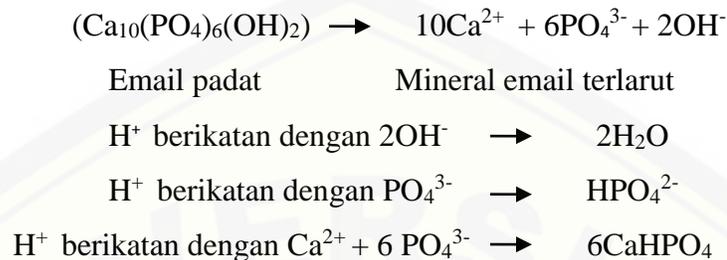
Pada uji kekerasan dengan menggunakan *Hardness Tester*, diperoleh hasil rata-rata kekerasan kelompok kontrol sebesar 100,25 HBN dan kelompok perlakuan sebesar 159,5 HBN. Hal ini menunjukkan kelompok perlakuan memiliki kekerasan yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kalsium dan fosfat dalam hidroksiapatit merupakan mineral penyusun utama yang sangat berpengaruh terhadap

kekerasan gigi. Rendahnya nilai kekerasan email gigi pada kelompok kontrol terjadi akibat terurainya mineral hidroksiapatit oleh karena proses kimia. Hal ini terjadi apabila pH dalam rongga mulut di bawah kritis ( $\text{pH} < 5,5$ ) yang disebabkan oleh kondisi asam (Widyastuti, 2001). Pada penelitian ini minuman berkarbonasi yang digunakan memiliki pH 2,3, sehingga asam yang terkandung didalamnya dapat menyebabkan demineralisasi email gigi. Waktu perendaman selama 5 menit ditentukan berdasarkan waktu penurunan pH dibawah nilai kritis yang disebabkan oleh minuman berkarbonasi (Lloyd, 2007).

Derajat keasaman (pH) pada rongga mulut yang awalnya netral akan turun dibawah pH kritis pada menit ke 5 setelah terpapar asam. Perendaman dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit memungkinkan terjadinya penurunan nilai kekerasan permukaan email gigi. Jika gigi terus terpapar asam, proses demineralisasi email gigi akan berlanjut hingga terbentuk mikroporositas (*microspace*) pada permukaan email, kemudian menyebabkan terjadinya erosi pada gigi dan penurunan kekerasan email gigi (Bamise *et al.*, 2009, Eisenburger *et al.*, 2001). Penelitian oleh Liesan dan Wiwi (dalam Prasetyo, 2005) menyatakan bahwa perendaman email selama 5 menit dalam minuman berkarbonasi mengakibatkan turunnya nilai kekerasan email. Hal ini terjadi karena adanya pelepasan mineral di daerah-daerah prisma email.

Derajat keasaman (pH) berperan penting dalam proses demineralisasi email karena pada pH asam akan terjadi peningkatan ion hidrogen yang akan berdifusi ke dalam email dan merusak ikatan hidroksiapatit pada email (Dawes, 2003; Prasetyo, 2005). Penelitian oleh Megantoro (2008) menyebutkan bahwa ion hidrogen ( $\text{H}^+$ ) akan berinteraksi dengan kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) dan fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) pada hidroksiapatit. Kalsium dan fosfat yang telah berinteraksi dengan ion hidrogen tidak dapat lagi membentuk ikatan hidroksiapatit, sehingga hidroksiapatit akan terurai.

Reaksi kelarutan kalsium dan fosfat email gigi pada pH asam adalah sebagai berikut :



pH asam menyebabkan ion  $\text{H}^+$  beraksi dengan ion fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) membentuk  $\text{HPO}_4^{2-}$ , sedangkan ion  $2\text{OH}^-$  yang berikatan dengan  $\text{H}^+$  akan membentuk  $2\text{H}_2\text{O}$  dalam email. Molekul  $6\text{CaHPO}_4$  merupakan molekul yang akan berdifusi keluar email sehingga email akan kehilangan mineral anorganik yang menyusun hidroksiapatit (Prasetyo, 2005). Pada pH 2-2,5, kalsium dan fosfat email yang larut sangat banyak. Asam yang terkandung dalam minuman berkarbonasi akan menyebabkan pelepasan kalsium dan fosfat email dengan derajat serta kecepatan kelarutan yang berbeda-beda. Hal ini akan menyebabkan lisis protein pada matriks organik, dan terjadinya demineralisasi pada email gigi (Lloyd, 2007).

Tingginya adesi termodinamika minuman berkarbonasi terhadap email dibanding saliva terhadap email, mengakibatkan molekul-molekul minuman berkarbonasi berikatan erat dengan permukaan email dan sulit digantikan oleh saliva. Hal ini akan memudahkan terjadinya demineralisasi pada email gigi dan menyebabkan rendahnya nilai kekerasan permukaan email setelah direndam dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit (Prasetyo, 2005).

## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Kekerasan email gigi yang direndam dalam minuman berkarbonasi dan diberi CPP-ACP lebih tinggi dibandingkan dengan email yang tidak diberi CPP-ACP
2. Gambaran kekasaran email gigi yang diberi CPP-ACP lebih halus dengan porositas yang lebih sedikit dibandingkan dengan yang tidak diberi CPP-ACP.

### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bahan selain CPP-ACP untuk remineralisasi email gigi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mengukur kedalaman mikroporositas email untuk melihat seberapa besar CPP-ACP dapat remineralisasi email gigi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan variasi waktu aplikasi CPP-ACP.

**DAFTAR BACAAN**

- Aimutis , W.R., 2004. *Bioactive Properties Of Milk Proteins with Particular Focus On Anticariogenesis*. J. Nutr., 134: 989-995.
- Alat Uji. 2013. *What is Hardness Test (Uji Kekerasan)?* [artikel on line] <http://www.alatuji.com/article/detail/3/what-is-hardness-test-uji-kekerasan> [10 Maret 2015]
- Alauddin, Sammel Shahrir. 2004. *In Vitro Remineralization of Human Enamel with Bioactive Glass Containing Dentrifice Using Confocal Microscopy and Nanoindentation Analysis For Early Caries Defense*. Tidak diterbitkan. Tesis. Florida: Universitas Florida.
- Al-Batayneh, Ola B. 2009. The Clinical Applications of Tooth Mousse and Other CPP-ACP Products in Caries Prevention : Evidence – Based Recommendations. *Jordan : Smile Dental Journal*.4(1):8-12.
- Amaral, CM., Miranda, ME., Correa, DS and Silva, EM. 2014. Sodium Fluoride and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Cream Plus Sodium Fluoride Efficacy in Preventing Enamel Erosion in A Simulated Oral Environment Study Model. *Indian J.Dent Res*.25(4):464-469.
- Andrini, Maria. 2012. *Pengaruh Aplikasi Topikal Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) terhadap Kadar Kalsium, Fosfat dan pH Saliva (Kajian pada White Spot)*. Tesis. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada: 46-49.
- Anggraeni, Nuha Desi. 2008. *Analisa SEM (Scanning Electrom Microscopy) dalam Pemantauan Proses Oksidasi Magnetite Menjadi Hematite*. Seminar Nasional – VII Rekayasa dan Aplikasi Teknik Mesin di Industri. Bandung : Kampus ITENAS: 52-54.
- Anusavice. K.J. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bahan Kedokteran Gigi*. Jakarta: EGC:93-109.
- Apriningtyaswati, Nisdian. 2013. *Analisis Efek Pengaruh Biji Kakao (Theobroma Cacao L) Terhadap Ukuran dan Morfologi Streptococcus Mutans Menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM)*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Universitas Jember: 15-17.
- Aramintha, Annisa Tari. 2004. *Kadar Kalsium Dalam Saliva Buatan setelah Aplikasi CPP-ACP*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.

- Asra, I. K., 2010. *Mass Media Competition Gerakan Nasional Senyum Indonesia Senyum Pepsodent (online)* [19 November 2014]
- Bamise, C. T., Kolawole, K. A and Oloyode, E. O. 2009. Tooth Erosion : Evaluating of the Use of Soft Drink, Fresh Fruit, Fruit Juice, and Medication among University Students. *World Aplied Science Journal*. 7(2): 11-18.
- Chandra, Ester Maria. 2009. *Gambaran Umum Minuman Ringan Berkarbonasi dan Penerapan Cukai Minuman Ringan Berkarbonasi di Negara Lain*. Jakarta: FISIP Universitas Indonesia: 23-24.
- Coca-cola Company. 2004. *Kandungan Minuman Berkarbonasi*. <http://www.coca-colabottling.co.id/>
- Daniel, W. 2005. *Biostatistic A Foundation For Analysis in The Health Science Eight Edition*. Georgia: Willey: 469.
- Dawes, C. 2003. What Is the Critical pH and Why Does a Tooth Dissolve in Acid?. *J Can Dent Assoc*. 69(11): 722-724.
- Dikri, I., Slamet S dan Ira W. 2003. Kelarutan Kalsium pada Enamel Setelah Direndam dalam Saliva Buatan pH 5,5 dan 6,5. *Maj. Ked. Gigi (Dent.J.)*, 36(1):7-10.
- Eisenburger, M., Addy M., Hughes J and Shellis R. 2001. Effect of Time on the Remineralisation of Enamel After Citric Acid Erosion. *Journal Caries Research*.35: 216-222.
- Erickson, P.R., Alevizos, D. L and Rindelaub, D. J. 2001. *Softdrinks: Hard on Teeth*. [http://www.Sipallday.OB/userfiles/ckfiles/files/softdrinks\\_hard\\_on\\_teeth.pdf](http://www.Sipallday.OB/userfiles/ckfiles/files/softdrinks_hard_on_teeth.pdf).
- Federation Equestre Internationale. 2010. *An Introduction to Scanning Electron Microscope*. Booklet: 3-7.
- Fraunhofer, J. A.V and Matthew M. Rogers. 2004. *Dissolution of Dental Enamel in Softdrink*. Operative Dentistry: 308-311. <http://www.agd.org/library/2004/aug/vonfraunhofer.pdf>.
- Godoy, Franklin Gracia and Hicks, M. John. 2008. Mantaining The Integrity of Enamel Surface. *The Journal of American Dental Association*. 139.
- Hafner, Bob. 2007. *Scanning Electron Microscopy Primer*. Minnesota : University of Minnesota.
- Heyde, Mithra N and Moany, Anu. 2012. Remineralization of Enamel Subsurface Lesions with Casein Phospopeptide- Amorphous Calcium Phosphate: A

- Quantitative Energy Dispersive X-ray Analysis Using SEM : An in Vitro Study. *J. Conservative Dentistry*.15(1): 61-67.
- Hoflinger, Gisela. 2013. *Brief Introduction To Coating Technology For Electron Microscopy*. <http://www.leica-microsystems.com/science-lab/brief-introduction-to-coating-technology-for-electron-microscopy/>
- Holic, Rizky. 2007. *Mengenal Minuman Berkarbonasi*.<http://warnawarni/htm>.
- JEOL. 2013. JSM-7600F Scanning Electron Microscope. <http://www.jeol.com/PRODUCTS/ElectronOptics/ScanningElectronMicroscopesSEM/SemiinLensFE/JSM7600F/tabid/519/Default.aspx>. [9 Juni 2013].
- Kidd, Edwina A. M. 2005. *Essentials of Dental Caries 3rd Edition*. Newyork: Oxford University Press.
- Lussi A and Jaeggi T. 2006. Chemical Factors. *Monograph Oral Sci*. 20:77-87.
- Lloyd, Robin. 2007. Acid In Popular Sodas Erode Tooth Enamel. <http://www.Livescience.com/health/070321-soda-teeth.html>.
- Megantoro, Aryo. 2008. Pengaruh Xylitol terhadap Proses Remineralisasi Email: Analisa Kualitatif Struktur Permukaan Email Gigi Menggunakan SEM. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Miller, Kimberly R. 2006. *Remineralization Strategies. A Review*. [http://www.periofrogz.com/articles/PerioFrogz\\_Article\\_Remneralization\\_Strategies.pdf](http://www.periofrogz.com/articles/PerioFrogz_Article_Remneralization_Strategies.pdf)
- Mount G. J. and Hume W.R. 2005. *Preservation and Restoration of Tooth Structure*. 2<sup>nd</sup> edition. Queensland: Knowledge book and software: 21-29.
- Notoatmodjo, S. 2005. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nuzulia, Esti. 2013. *Efektivitas Air Perasan Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L) dalam Membentuk Mikroporositas Email*. Skripsi. Jember : Universitas Jember.
- Prasetyo, E. A. 2005. Keasaman Minuman Ringan Menurunkan Kekerasan Permukaan Gigi. *Majalah Kedokteran Gigi (Dent. J) Vol. 38: 60-63*.
- Reynolds, E. C., Cai. F., Shen. P and Walker G. D. 2009 . Consumption of Milk with Added Casein Phosphopeptide – Amorphous Calcium Phosphate Remineralized Enamel Surface Lessions in Situ. *Australia: Dent J. 54 (3) : 245 : 9*.

- Rose, R. K. 2000. Effects of An Anticariogenic Casein Phosphopeptide on Calcium Diffusion in Streptococcal Model Dental Plaques. *Arch Oral Biol.* 45(7):569-575.
- Ross, A. Poche., Ramaswamy Sharma., Monica D. Gracia and Aya M.Wada. 2006. *Transcription Factor Fox01 is Essential for Enamel Biomineralization.* ResearchArticle. [www.journals.plos.org/plosone/article?id=10.1171/journal.pone.0030357](http://www.journals.plos.org/plosone/article?id=10.1171/journal.pone.0030357).
- Sabel, Nina. 2012. *Enamel of Primary Teeth-Morphological and Chemical Aspect.* Sweden: University of Gothenburg.
- Segundo., Pisani., Paranhos., Souza and Lovato. 2008. Effect Of A Denture Cleanser on Hardness, Roughness and Tensile Bond Strength Of Denture Liners. *Brazil Journal Oral Science.* Vol 7(26):1596-1601.
- Shen, P., Cai F., Nowicki A., Vincent J and Reynolds E. C. 2001. Remineralization Of Enamel Subsurface Lesions by Sugar-Free Chewing Gum Containing Casein Phosphopeptide- Amorphous Calcium Phosphate. *Australia: J. Dent Res.* 80(12):2066-70.
- Sibarani, Yosua Alexander. 2011. *Gigi dan Mulut.* <http://www.morphostlab.com/artikel/gigi-dan-mulut/demineralisasi-dan-remineralisasi.html>.
- Sintawati, Jureta., Soemartino, Sri Harini dan Suharsini, Margaretha. 2008. Pengaruh Durasi Aplikasi Asam Fosfat 37% terhadap Kekuatan Geser Restorasi Resin Komposit pada Enamel Gigi Tetap. *Indonesian Journal of Dentistry;* 15 (2): 97-103.
- Sutjiati, R. 2000. *Aplikasi APF (Acidulated Phosphate Fluoride) untuk Mencegah Demineralisasi.* Kumpulan Makalah Seminar Rutin Dosen FKG- UNEJ. Jember: FKG Universitas Jember.
- Tim Ilmu Pangan UGM. 2003. *Gula Permen Karet Menjaga Kesehatan Gigi.* <http://www.sinarharapan.co.id>.
- Utami, F. S. 2004. *Pengaruh Minuman Berkarbonasi Terhadap Kekerasan Email Gigi Permanen.* Skripsi. Jember: FKG Universitas Jember.
- Widyastuti, Y. 2001. Pengaruh Minyak Cengkeh (*Eugenia caryophyllus*) terhadap Kelarutan Fosfat pada Enamel dan Dentin Gigi. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.

Zhou, Chunhua., Dongliang Z., Yuxing B and Song Li. 2014. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate Remineralization of Primary Teeth Early Enamel Lesions. *J.Dent Res.* 42(1):21-29.



**Lampiran A. Hasil Analisa Data**

**A.1 Uji Normalitas kolmogorov-Smirnov**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kekerasan	8	129.8750	40.46317	88.00	212.00

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		kekerasan
N		8
Normal Parameters(a,b)	Mean	129.8750
	Std. Deviation	40.46317
Most Extreme Differences	Absolute	.162
	Positive	.162
	Negative	-.150
Kolmogorov-Smirnov Z		.457
Asymp. Sig. (2-tailed)		.985

a Test distribution is Normal.  
 b Calculated from data.

**Descriptives**

kekerasan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	4	100.2500	10.24288	5.12144	83.9513	116.5487	88.00	113.00
perlakuan	4	159.5000	37.08099	18.54050	100.4959	218.5041	127.00	212.00
Total	8	129.8750	40.46317	14.30589	96.0469	163.7031	88.00	212.00

## A.2 Uji Homogenitas Levene-Statistik

### Test of Homogeneity of Variances

kekerasan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.039	1	6	.132

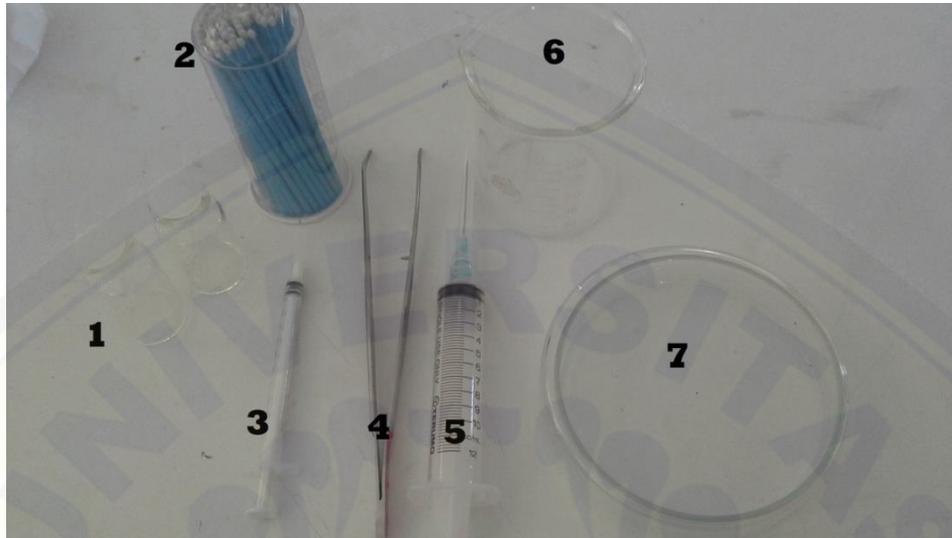
## A.3 Independent T-Test

### Group Statistics

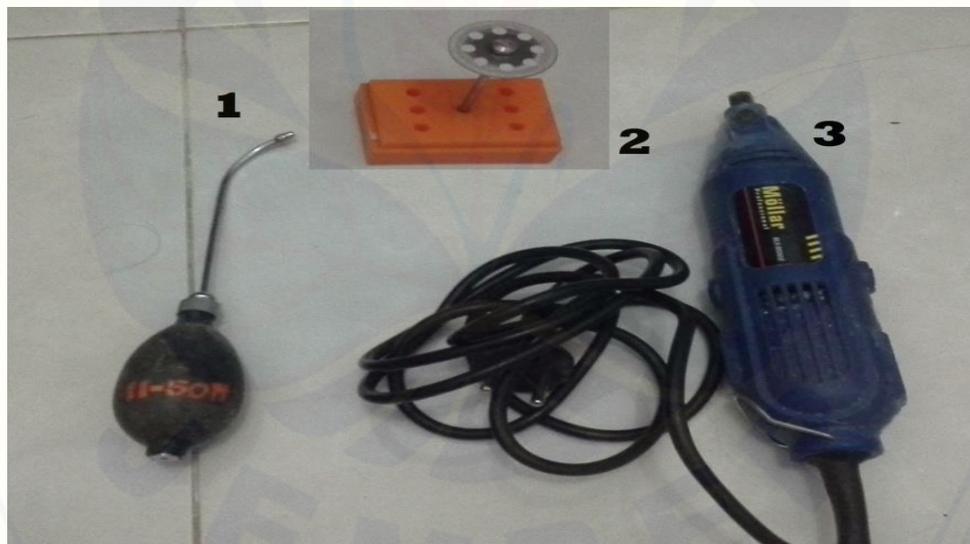
	perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kekerasan kontrol		4	100.2500	10.24288	5.12144
perlakuan		4	159.5000	37.08099	18.54050

### Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
										Upper	Lower
kekera san	Equal variances assumed	3.039	.132	-3.080	6	.022	59.25000	19.23484	106.31596	-	-
	Equal variances not assumed			-3.080	3.455	.045	59.25000	19.23484	116.14534	-	-

**Lampiran B. Alat dan Bahan Penelitian**

Gambar B.1 Alat Penelitian (1) Pot Obat; (2) *microbrush*; (3) *syringe* insulin; (4) pinset; (5) *syringe*; (6) gelas ukur; (7) *petridish*



Gambar B.2 Alat Penelitian (1) Chip blower; (2) *diamond disc*; (3) *Mini Grinder* (Modern, Cina)



Gambar B.3 Alat penelitian (1) inkubator; (2) *Portable Hardness Tester* TH120; (3) *Mini sputter coater* SC7620 (Emitech); (4) pH-meter; (5) *Scanning Electron Microscope* (FEI, Type Inspect-S50)



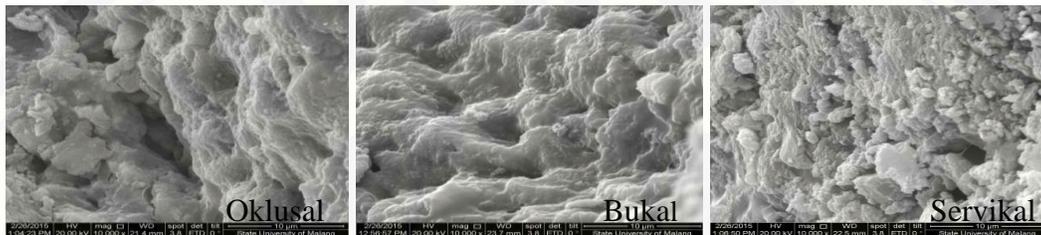
Gambar B.4 Bahan Penelitian (1) larutan saliva buatan; (2) akuades steril; (3) Gel GC. *Tooth Mousse*; (4) larutan saline; (5) minuman berkarbonasi, merk Coca-Cola; (6) elemen gigi premolar rahang atas.

## Lampiran C. Gambar Hasil Penelitian SEM

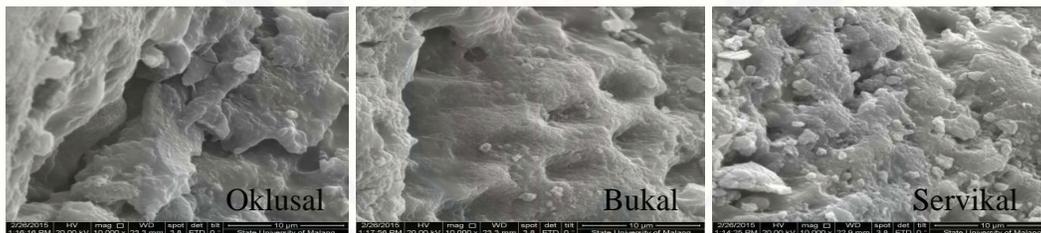
### A. Sampel A (kelompok kontrol)

Gambaran morfologi permukaan email gigi pada bagian oklusal, bukal dan servikal dari 4 sampel yang direndam dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit dan direndam dalam saliva buatan selama 28 hari dengan perbesaran 10.000x.

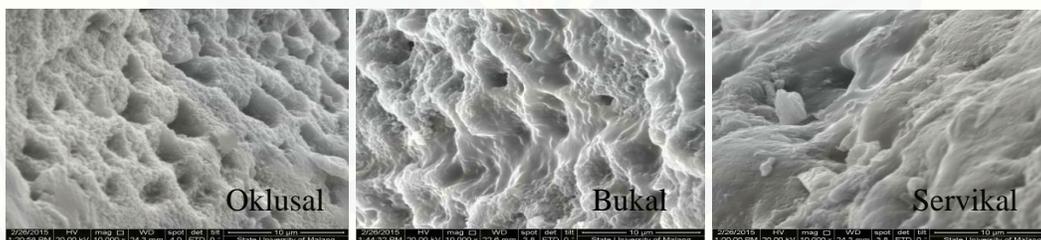
#### Sampel A.1



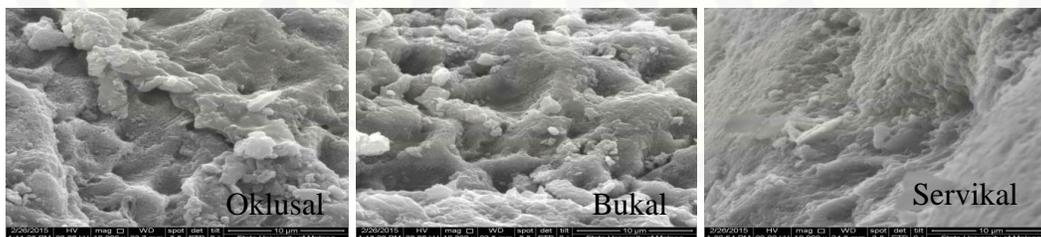
#### Sampel A.2



#### Sampel A.3



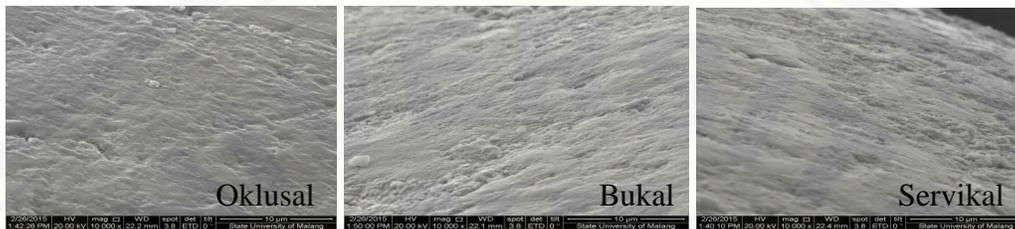
#### Sampel A.4



## B. Sampel B (Kelompok Perlakuan)

Gambaran morfologi permukaan email gigi pada bagian oklusal, bukal dan servikal dari 4 sampel yang direndam dalam minuman berkarbonasi selama 5 menit dan diberi CPP-ACP selama 28 hari dengan perbesaran 10.000x.

### Sampel B.1



### Sampel B.2



### Sampel B.3



### Sampel B.4

