



**PENGARUH MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG) PADA INDUK
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) TERHADAP KERUSAKAN
STRUKTUR ENAMEL GIGI KETURUNANNYA (F1)**

SKRIPSI

Oleh

**Gladiola Nadisha
NIM 121610101005**

**BAGIAN ILMU KEDOKTERAN GIGI DASAR
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**PENGARUH MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG) PADA INDUK
TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) TERHADAP KERUSAKAN
STRUKTUR ENAMEL GIGI KETURUNANNYA (F1)**

SKRIPSI

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

Oleh

**Gladiola Nadisha
NIM 121610101005**

**BAGIAN KEDOKTERAN GIGI DASAR
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas kemudahan, rahmat, dan berkah yang tiada habisnya sepanjang hidup;
2. Nabi Muhammad SAW, yang menjadi panutan dunia dan akhirat;
3. Ayahanda Sunaryo dan Ibunda Endang Srilestari yang terscinta;
4. Kakak – Kakaku Bagas Gilang Perdana dan Enggar Suryo Andari tersayang;
5. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.
Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.
(Q.S. Al Insyirah : 6-8)^{*)}

“Understanding is the first step to acceptance, and only with acceptance can there be recovery”. Memahami adalah langkah awal untuk menerima, dan hanya dengan menerima kita dapat memperbaiki diri. (Dumbledore)^{**)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Solo: PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

^{**)} Rowling, J.K. 2005. *Harry Potter and the Goblet of Fire (Vol. 4)*. London: Bloomsbury.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Gladiola Nadisha

NIM : 121610101005

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) pada Induk Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap Kerusakan Struktur Enamel Gigi Keturunannya (F1)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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 ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 15 Februari 2016

Yang menyatakan,

Gladiola Nadisha

NIM 121610101005

SKRIPSI

**PENGARUH MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG) PADA INDUK TIKUS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) TERHADAP KERUSAKAN STRUKTUR
ENAMEL GIGI KETURUNANNYA (F1)**

Oleh

**Gladiola Nadisha
NIM 121610101005**

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Didin Erma I., M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Raditya Nugroho, Sp.KG

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) pada Induk Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap Kerusakan Struktur Enamel Gigi Keturunannya (F1)” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal :

tempat :

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

Dr. drg. Atik Kurniawati., M.Kes

NIP 197102041998022002

drg. Yani Corvianindya R., M.KG

NIP 197308251998022001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping

Dr. drg. Didin Erma I., M.Kes

NIP 196903031997022001

drg. Raditya Nugroho, Sp.KG

NIP 198206022009121003

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost

NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) Pada Induk Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Terhadap Kerusakan Struktur Enamel Gigi Keturunannya (F1);
Gladiola Nadisha, 121610101005; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Perkembangan dalam ilmu pengetahuan dan teknologi membawa dampak pada masyarakat yang cenderung menyukai makanan yang enak dan praktis. Oleh karena itu, bahan tambahan makanan seperti Monosodium Glutamat (MSG) semakin banyak digunakan. Menurut BPOM, konsumsi MSG tidak menimbulkan bahaya terhadap kesehatan. Hal ini cukup bertentangan dengan banyak penelitian yang menemukan bahwa MSG dapat memberikan dampak negatif bagi tubuh. MSG dapat menyebabkan gangguan endokrin yang akan mengganggu proses pertumbuhan dan perkembangan gigi yang dapat menyebabkan defek pada struktur enamel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian MSG pada induk tikus wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap kerusakan struktur enamel gigi keturunannya (F1).

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Terdapat 3 kelompok penelitian, yaitu anak tikus jantan yang lahir dari induk yang tidak diberikan MSG (kontrol), anak tikus yang lahir dari induk yang diberikan MSG pada periode hamil, dan anak tikus yang lahir dari induk yang diberikan MSG pada periode hamil dan menyusui (21 hari post partum) dengan masing – masing kelompok terdiri dari 5 sampel. Penelitian diawali dengan memberikan MSG peroral pada induk tikus hamil kelompok perlakuan. Pemberian MSG dilakukan setiap hari sejak hari ke-5 kehamilan tikus betina sampai partum pada kelompok kedua, dan sampai masa laktasi pada kelompok ketiga (21 hari setelah melahirkan). Induk tikus yang hamil pada kelompok 1 (kontrol) tidak diberikan MSG. Anak tikus jantan dari seluruh kelompok didekapitasi pada usia 21 hari. Rahang bawahnya diambil dan dicabut gigi molar 1 kanannya. Sampel gigi molar tersebut diamati dengan menggunakan *Scanning*

Electrone Microscope (SEM) perbesaran 5000x. Gambar dari uji SEM diolah menggunakan *software ImageJ* 1.49V dengan hasil yang keluar adalah persen area porositas.

Data hasil penelitian kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistik. Nilai rata – rata jumlah area porositas kelompok yakni kelompok 1 sebesar 7,039%, kelompok 2 sebesar 13,909%, dan kelompok 3 sebesar 18,147%. Dilakukan uji beda *One Way Annova* yang hasilnya terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Selanjutnya, dilakukan uji lanjutan *Post Hoc LSD* yang hasilnya didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok 1 dengan kelompok 2, kelompok 1 dengan kelompok 3, dan juga kelompok 2 dengan kelompok 3 ($P < 0,05$).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat kerusakan struktur enamel berupa penambahan area porositas yang signifikan pada gigi anak tikus wistar kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini disebabkan MSG dapat merusak nukleus arkuata hipotalamus dan menyebabkan pengurangan berat kelenjar hipofisis dan tiroid. Hal tersebut menyebabkan reduksi hormon GH dan TSH. Kekurangan GH berdampak pada gangguan perkembangan dan mineralisasi gigi, sedang kekurangan TSH mengakibatkan hipotiroid yang menyebabkan defek pada struktur enamel. Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, dapat disimpulkan bahwa pemberian Monosodium Glutamat pada induk tikus tikus wistar selama hamil dan menyusui berpengaruh dalam peningkatan porositas dan kerusakan struktur enamel gigi molar tikus neonatal yang dilahirkan.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) Pada Induk Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Terhadap Kerusakan Struktur Enamel Gigi Keturunannya (F1)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Orang tua tersayang, Bapak Sunaryo dan Ibu Endang Srilestari yang tidak pernah berhenti memberikan kasih sayang, doa, motivasi, dukungan, dan semangat;
2. Kakak – kakak tercinta Bagas Gilang Perdhana dan Enggar Suryo Andari yang dengan tulus memberikan doa dan dukungan dalam setiap langkah adiknya;
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. drg. Sri Hernawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Izzata Barid, M.Kes., selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
7. Dr. drg. Didin Erma I., M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Raditya Nugroho, Sp.KG., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
8. Dr. drg. Atik Kurniawati., M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Yani Corvianindya R., M.KG., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;

9. drg. Hengky Bowo Ardhiyanto MD.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam perjalanan studi selama penulis menjadi mahasiswa;
10. Staf Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember;
11. Staf Laboratorium Sentral FMIPA Universitas Negri Malang;
12. Sahabat-sahabat kecilku tersayang Demang, Fiqi, Butet, Fahrul, Satria, Iif, Selvy, Ary, Nindi, Danang, dan Okky yang selalu memberikan dukungan dan semangat, serta menghibur dikala susah dalam pengerjaan skripsi ini;
13. Sahabat-sahabat tanah rantau tersayang Lona, Ceha, Dika, Zala, Gita, Balqis, Hayyu, Ciciw, Rachel, Dwi, Bombom, Widad, Mastuki, Mbak Lia, Mbak Rere, dan Ika yang selalu memberikan semangat dan menjadi keluarga di tanah rantau;
14. Teman-teman seperjuangan skripsi Mindiya dan Puspita. Terimakasih atas dukungan dan kerjasamanya;
15. Seluruh teman-teman FKG 2012. Terima kasih atas motivasi, kerja sama, persaudaraan, dan kekompakkannya selama ini;
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 15 Februari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

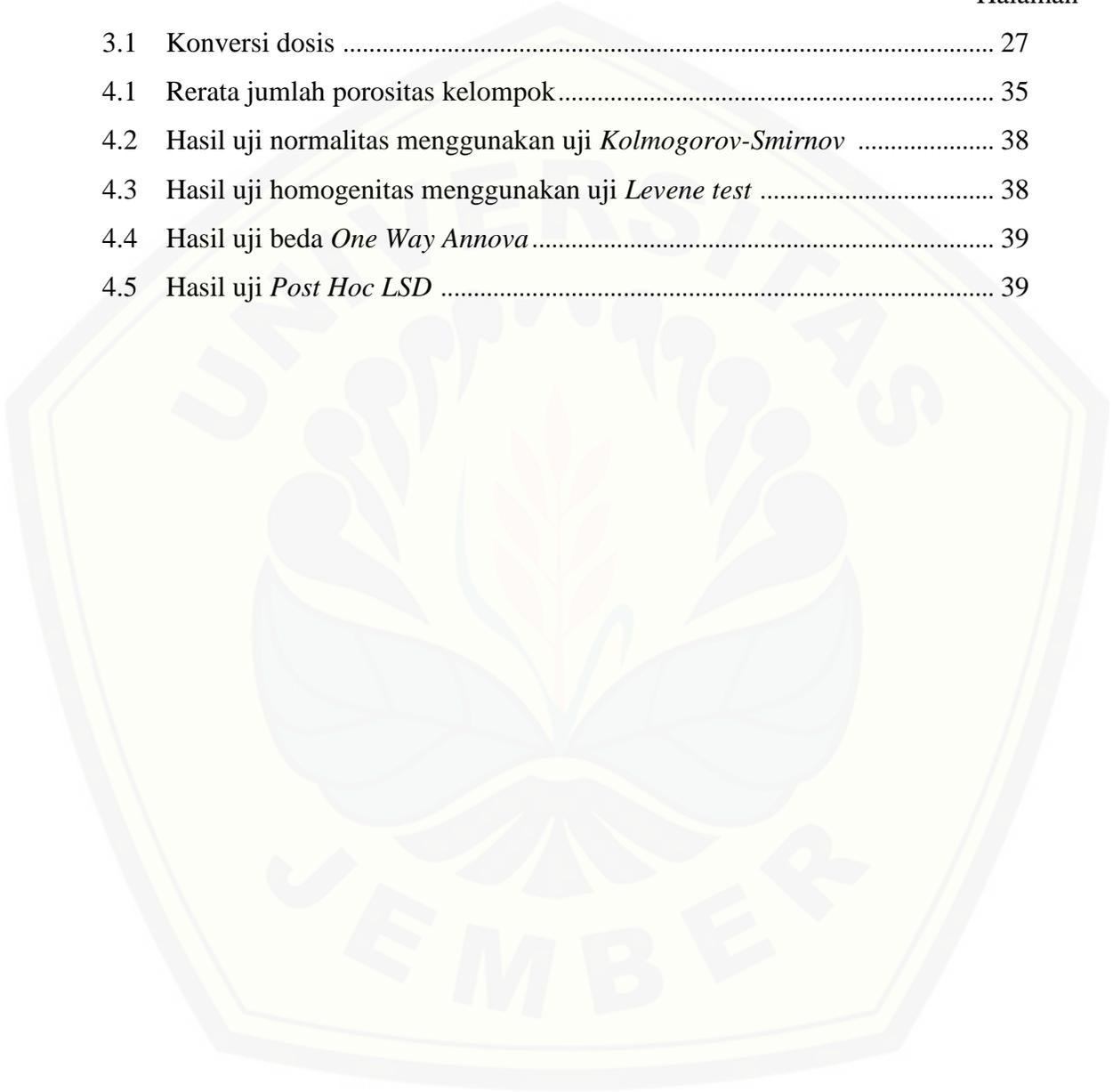
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Definisi Monosodium Glutamat.....	5
2.2 Sejarah MSG	5
2.3 Sifat Kimia MSG.....	6
2.4 Efek Biologis MSG.....	7
2.5 Tahapan Perkembangan Gigi.....	10
2.6 Struktur Enamel Gigi	13
2.7 Kerusakan Struktur Enamel.....	14
2.8 Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>).....	15

2.9 Scanning Electron Microscope (SEM)	17
2.10 Hipotesa.....	19
2.11 Kerangka Konseptual	20
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	21
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.2.1 Waktu Penelitian	21
3.2.2 Tempat Penelitian.....	21
3.3 Identifikasi Variabel Penelitian	21
3.3.1 Variabel Bebas	21
3.3.2 Variabel Terikat	21
3.3.3 Variabel Terkendali.....	21
3.4 Definisi Operasional.....	22
3.4.1 Monosodium Glutamat (MSG).....	22
3.4.2 Struktur Enamel	22
3.4.3 Periode Pemberian MSG.....	22
3.4.4 Induk Tikus Wistar.....	22
3.4.5 Anak Tikus Wistar	22
3.5 Populasi dan Sampel Penelitian	23
3.5.1 Populasi Penelitian.....	23
3.5.2 Sampel Penelitian.....	23
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
3.6.1 Alat Penelitian.....	25
3.6.2 Bahan Penelitian.....	26
3.7 Prosedur Pelaksanaan Penelitian	26
3.7.1 Konversi Dosis	26
3.7.2 Persiapan Hewan Coba	27
3.7.3 Pembuatan Preparat Vaginal Smear.....	27
3.7.4 Perlakuan Hewan Coba.....	29

3.7.5 Persiapan Uji SEM.....	30
3.7.6 Uji SEM	30
3.7.7 Pengolahan Gambar	30
3.8 Analisa Data.....	33
3.9 Alur Penelitian.....	34
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1 Hasil.....	35
4.2 Pembahasan.....	39
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
5.1 Kesimpulan.....	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
3.1 Konversi dosis	27
4.1 Rerata jumlah porositas kelompok.....	35
4.2 Hasil uji normalitas menggunakan uji <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	38
4.3 Hasil uji homogenitas menggunakan uji <i>Levene test</i>	38
4.4 Hasil uji beda <i>One Way Annova</i>	39
4.5 Hasil uji <i>Post Hoc LSD</i>	39



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Struktur kimia MSG	6
2.2 Enamel rod potongan melintang	14
2.3 Diagram skematik fungsi dasar dan cara kerja SEM	18
2.4 Kerangka konsep penelitian	20
3.1 Fase proestrus dan fase estrus	29
3.2 Alat SEM.....	31
3.3 Pengaturan <i>threshold</i> pada <i>software ImageJ 1.49V</i>	32
3.4 Hasil pengolahan gambar dengan <i>software ImageJ</i>	32
3.5 Bagan alur penelitian.....	34
4.1 Histogram rerata area porositas enamel gigi tikus	36
4.2 Struktur enamel pada lereng cusp dengan perbesaran 5000x yang diolah dengan menggunakan <i>software ImageJ 1.49V</i>	37
4.3 Struktur enamel pada bukal dengan perbesaran 5000x yang diolah dengan menggunakan <i>software ImageJ 1.49V</i>	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat <i>Ethical Clearance</i> Penelitian	49
B. Analisis Data	50
B.1 Uji normalitas dengan <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	50
B.2 Uji homogenitas dengan <i>Levene Statistic</i>	50
B.3 Uji <i>One Way ANOVA</i>	50
B.4 Uji <i>Post Hoc LSD</i>	51
C. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	51
D. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian.....	55
E. Data Penelitian.....	59
E.1 Tabel Data Penelitian	59

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan dalam ilmu pengetahuan dan teknologi membawa dampak dalam berbagai perubahan gaya hidup dan kebutuhan masyarakat. Salah satunya adalah perubahan pola konsumsi dimana masyarakat cenderung menginginkan makanan enak dengan cara yang praktis. Oleh karena itu, penggunaan bahan tambahan makanan banyak sekali digunakan seperti senyawa L-asam glutamat yang digunakan dalam bentuk garamnya yaitu Monosodium Glutamat (MSG) (Rodriguez *et al.*, 2003).

Monosodium Glutamat (MSG) adalah garam natrium yang berikatan dengan asam amino berupa asam glutamat. Monosodium Glutamat (MSG) berbentuk kristal putih yang stabil, tetapi dapat mengalami degradasi oleh oksidator kuat (Nuryani dan Jinap, 2010). Monosodium Glutamat (MSG) telah dikonsumsi secara luas di seluruh dunia sebagai penambah rasa makanan dalam bentuk garam *L-glutamic acid*, karena penambahan MSG akan membuat rasa makanan menjadi lebih lezat (Prawirohardjono *et al.*, 2000). Masyarakat Indonesia rata-rata mengkonsumsi MSG sekitar 0,6 g/kg BB setiap harinya (Prawirohardjono *et al.*, 2000). Artinya dalam sehari dengan berat badan 50 kg, rata rata masyarakat mengkonsumsi sekitar 30 gram MSG. Ditambah dengan tidak adanya batasan spesifik dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) atas konsumsi MSG. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 23 Tahun 2013 Pasal 4 tentang batas maksimum penggunaan bahan tambahan pangan penguat rasa menyatakan, asupan harian yang dapat diterima atau *Acceptable Daily Intake* (ADI) dari bahan tambahan pangan jenis asam L-glutamat dan garamnya adalah *not specified/ADI not limited/ADI acceptable/no ADI Allocated/no ADI necessary* adalah istilah yang digunakan untuk bahan tambahan pangan yang mempunyai toksisitas sangat rendah secara kimia, biokimia, toksikologi dan data lainnya. *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) menyatakan bahwa jumlah asupan bahan tambahan pangan yang

digunakan untuk mencapai efek yang diinginkan tidak menimbulkan bahaya terhadap kesehatan. Hal ini cukup bertentangan dengan banyak penelitian yang menemukan bahwa MSG dapat memberikan dampak negatif bagi tubuh.

Menurut Setiawati (2008), konsumsi MSG berlebihan pada sebagian populasi dapat menimbulkan beberapa gejala sakit antara lain rasa panas, rasa tertusuk-tusuk pada wajah dan leher, dada sesak, dan bercak pada kulit yang dikenal dengan sebutan *Chinese Restaurant Syndrome*. Efek langsung yang timbul setelah mengkonsumsi MSG telah dilaporkan terjadinya *MSG- Symptom Complex*, yang gejalanya timbul setelah satu jam mengkonsumsi MSG 3 g, terutama bila dikonsumsi pada saat perut kosong. *MSG Symptom complex* ditandai dengan rasa terbakar dan kebas di belakang leher, lengan, dan dada, hangat di wajah dan pundak, rasa nyeri di dada, sakit kepala, mual, denyut jantung meningkat, bronchospasme (Maidawilis, 2010).

Penelitian lain menyebutkan bahwa MSG juga menyebabkan penurunan kandungan histamin, merusak sel – sel saraf hipotalamus, yang dapat merubah kontrol neural dari sekresi hormon yang diproduksi oleh kelenjar hipotalamus – hipofisis (Aisha, 2014). Glutamat akan berinteraksi dengan reseptor *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) sehingga akibat interaksi glutamat dengan reseptor NMDA tersebut dapat menyebabkan degenerasi nukleus arkuata pada hipotalamus. Keadaan tersebut dapat memicu gangguan endokrin (Park *et al.*, 2000).

Penyuntikan MSG pada mencit betina secara subkutan pada masa postnatal dapat menurunkan berat kelenjar – kelenjar endokrin yaitu pada kelenjar hipofisis, tiroid, ovarium, dan testis (Trentini dan Botticelli dalam Maidawilis 2010). Disamping itu MSG dapat menyebabkan gangguan endokrin melalui mekanisme hipotalamus-hipofisis (Hermanussen *et al.*, 2006).

Kelenjar hipofisis disebut sebagai *master gland* karena mensekresi hormon yang mengendalikan sekresi hormon oleh kelenjar endokrin lainnya. Kelenjar hipofisis lobus anterior menghasilkan hormon mayor yaitu *growth hormone* (GH) dan *thyroid-stimulating hormone* (TSH) yang sekresinya distimulasi oleh hormon – hormon dari kelenjar hipotalamus *growth hormone-releasing hormone* (GHRH) dan *thyrotrophin-*

releasing hormone (TRH). Sehingga gangguan pada kelenjar hipotalamus dapat menyebabkan gangguan pada GH dan TSH (Griffin dan Ojeda, 2004). Gangguan pada GH dapat mempengaruhi perkembangan dan mineralisasi gigi, oleh karena reseptor GH berperan penting pada sel preameloblas yang sedang berproliferasi dan berdiferensiasi (Sasaki, 2003). Kekurangan GH dapat menyebabkan penurunan ekspresi RNA pada sel – sel preameloblas (Sasaki, 2003). Disamping itu, kekurangan GH juga mengakibatkan penurunan sintesis proteoglikan. Proteoglikan akan membentuk matriks ekstraseluler yang berperan penting dalam mineralisasi gigi. Sehingga gangguan pada proses ini dapat mempengaruhi perkembangan dan mineralisasi gigi (Sasaki, 2003). Gangguan pada TSH bisa menyebabkan hipotiroidism (Griffin dan Ojeda, 2004). Bila terjadi pada fase prenatal ataupun postnatal dapat menghambat proses perkembangan gigi yaitu terjadinya defek enamel pada masa pertumbuhan selanjutnya (Sasaki, 2003)

Defek enamel atau kerusakan struktur enamel merupakan suatu keadaan menurunnya kualitas enamel yang menyebabkan kerapuhan pada enamel yang dapat mempermudah terjadinya kerusakan pada struktur gigi. Salah satu contohnya adalah hipoplasia enamel (Seow *et al.*, 2005). Hipoplasia enamel adalah berkurangnya komposisi enamel dibandingkan normal yang disebabkan akibat kurangnya jumlah matriks pembentuk enamel (Seow *et al.*, 2005). Komposisi enamel terdiri dari 1% air, 2% bahan organik dan 97% mineral. Dimana zat anorganik yang utama berupa hidroksiapatit $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ yang tersusun atas komponen – komponen kalsium fosfat (Berkovitz *et al.*, 2009). Kelainan ini dapat menyebabkan porositas pada permukaan gigi, baik terlokalisir maupun pada seluruh gigi dan dapat juga menyebabkan bentuk gigi yang tidak sempurna (Seow *et al.*, 2005).

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh pemberian MSG secara peroral selama fase gestasi hingga fase partum dan laktasi terhadap kerusakan struktur enamel dalam hal ini porositas enamel dengan menggunakan hewan coba. Adapun hewan coba yang digunakan adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*), karena hewan coba mudah didapat, harga relatif murah,

pemeliharaan tidak terlalu sulit, biaya perawatan murah, ukuran gigi cukup besar dan tikus juga dapat digunakan untuk mewakili mamalia termasuk manusia.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu :

Bagaimana pengaruh pemberian MSG pada induk tikus wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap kerusakan struktur enamel gigi keturunannya (F1)?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh pemberian MSG pada induk tikus wistar (*Rattus norvegicus*) terhadap kerusakan struktur enamel gigi keturunannya (F1).

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh pemberian MSG pada induk tikus wistar (*Rattus norvegicus*) hamil terhadap kerusakan struktur enamel gigi keturunan generasi pertamanya (F1).
- 1.4.2 Dapat digunakan sebagai bahan penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium glutamat adalah garam natrium yang berikatan dengan asam amino berupa asam glutamat. MSG berbentuk kristal putih yang stabil, tetapi dapat mengalami degradasi oleh oksidator kuat (Nuryani dan Jinap, 2010). MSG merupakan bentuk garam yang banyak digunakan dari senyawa senyawa L-asam glutamat (Rodriguez *et al.*, 2003).

Monosodium Glutamat (MSG) biasa digunakan sebagai bahan tambahan pangan (BTP). BTP sendiri merupakan adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan (BPOM, 2013).

Penguat rasa (Flavour enhancer) adalah bahan tambahan pangan untuk memperkuat atau memodifikasi rasa dan/atau aroma yang telah ada dalam bahan pangan tersebut tanpa memberikan rasa dan/atau aroma tertentu (BPOM, 2013). MSG telah dikonsumsi secara luas di seluruh dunia sebagai penguat rasa makanan karena penambahan MSG akan membuat rasa makanan menjadi lebih lezat (Rangkuti *et al.*, 2012). Ada MSG terdapat suatu komponen L-glutamat dan 5-ribonukleotida. Rangsangan selera dari makanan yang diberi MSG disebabkan oleh kombinasi rasa yang khas dari efek sinergis MSG dengan komponen 5-ribonukleotida yang terdapat di dalam makanan, yang bekerja pada membran sel reseptor kecap atau lidah (Wakidi, 2012). Oleh karena itu penambahan MSG akan membuat rasa makanan menjadi lebih lezat (FSANZ, 2003). Pemberian bahan tambahan pangan termasuk MSG boleh diberikan secukupnya yang diperlukan hanya untuk menghasilkan efek yang diinginkan (BPOM, 2013).

2.2 Sejarah MSG

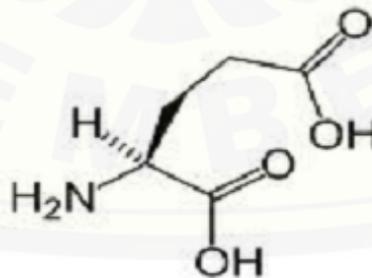
MSG ditemukan pertama kali pada tahun 1909, oleh seorang ahli kimia yang berasal dari Jepang yang bernama dr. Kikunae Ikeda. Ikeda mengisolasi asam glutamate yang berasal dari rumput laut (genus *Laminaria*) dan disebut 'kombu'di

Jepang (Halpern, 2002). Kemudian dia menemukan rasa lezat dan gurih yang berbeda dengan rasa yang pernah dikenalnya. Oleh karena itu, Ikada menyebut rasa itu dengan sebutan 'umami' yang berasal dari bahasa Jepang 'umai' yang berarti enak dan lezat. Rasa umami ini dapat bertahan lama, di dalamnya terdapat suatu komponen L-glutamat dan 5-ribonukleotida yang dapat menggugah selera makan (Wakidi, 2012).

Pada tahun 1970 *Food and Drug Administration* (FDA) menetapkan batas aman konsumsi MSG yaitu 120 mg/kg berat badan per hari dan tidak boleh diberikan kepada bayi kurang dari 12 minggu. Pada tahun 1986 FDA menyatakan bahwa mengkonsumsi MSG itu aman hingga pada tahun 1987 WHO menghapus batasan penggunaannya dalam sehari-hari. Hal itu menyebabkan MSG yang dijual di pasaran tidak disertai petunjuk takaran dalam hal penggunaannya yang kemudian menyebabkan konsumsi MSG menjadi tidak terbatas pada makanan (Budiarso, 2003). Oleh karena itu, Penggunaan bahan tambahan makanan banyak sekali digunakan (Rodriguez *et al.*, 2003). Berbagai merk dagang MSG telah dikenal di masyarakat secara luas seperti ajinomoto, vetsin, micin, sasa, miwon dan sebagainya (Maidawilis, 2010).

2.3 Sifat Kimia MSG

MSG mempunyai rumus kimia $C_5H_8O_4NNaH_2O$. Komposisi MSG terdiri atas Natrium sebanyak 12%, glutamate 78% dan air 10% (Loliger, 2000).



Gambar 2.1 Struktur Kimia MSG

Sumber: Loliger, 2000

MSG bersifat larut dalam air (Geha, 2000), glutamat yang terdapat dalam MSG merupakan suatu asam amino yang banyak dijumpai pada beberapa makanan, kandungan glutamate 20% dari total asam amino pada beberapa makanan baik bebas maupun terikat dengan peptida atau protein (Fernstrom, 2000). Sedangkan glutamat yang terdapat di dalam MSG dan yang berasal dari hidrolisa protein tumbuhan merupakan glutamate dalam bentuk bebas. Dimana konsumsi glutamat bebas akan meningkatkan kadar glutamate dalam plasma darah (Gold dalam Maidawilis 2010). Asam amino non esensial seperti glutamate dimetabolisme secara menyebar luas dalam jaringan tubuh. 57% dari asam amino yang diabsorpsi dirubah menjadi urea melalui hati, sedangkan 6% menjadi plasma protein, 23% diabsorpsi melalui sirkulasi umum sebagai asam amino bebas, dan sisanya 14% tidak dilaporkan dan diduga disimpan sementara di dalam hati sebagai protein hati atau enzim (Sukawan, 2008). Rasa yang dihasilkan oleh MSG sendiri sebenarnya tidak menghasilkan rasa yang enak. Namun apabila ditambahkan dengan konsentrasi rendah pada makanan yang sesuai maka dapat meningkatkan rasa, kenikmatan dan penerimaan terhadap makanan tersebut (Halpern, 2002).

2.4 Efek Biologis MSG

MSG telah banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, bahkan telah mencapai sekitar 0,6 g/kg BB setiap harinya (Prawirohardjono *et al.*, 2000). Artinya dengan berat badan 50 kg, dalam sehari rata - rata masyarakat mengkonsumsi sekitar 30 gram MSG. Sementara itu, Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) sendiri tidak memberikan batasan spesifik atas konsumsi MSG.

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 23 Tahun 2013 Pasal 4 tentang batas maksimum penggunaan bahan tambahan pangan penguat rasa, asupan harian yang dapat diterima atau *Acceptable Daily Intake* (ADI) dari bahan tambahan pangan jenis asam L-glutamat dan garamnya adalah ADI *not specified*. ADI tidak dinyatakan atau *ADI not specified* adalah istilah yang digunakan untuk bahan tambahan pangan yang mempunyai

toksisitas sangat rendah, berdasarkan data (kimia, biokimia, toksikologi dan data lainnya), jumlah asupan bahan tambahan pangan tersebut jika digunakan dalam takaran yang diperlukan untuk mencapai efek yang diinginkan serta pertimbangan lain, menurut pendapat *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) tidak menimbulkan bahaya terhadap kesehatan.

Selain itu, badan Pengawas Makanan dan Obat-obatan (Food and Drugs Administration, FDA) Amerika Serikat mengklasifikasikan MSG sebagai bahan yang aman untuk dikonsumsi, seperti bahan makanan lainnya, misalnya garam, cuka, dan pengembang kue (FDA, 2013). Namun demikian, berbagai penelitian juga melaporkan adanya efek yang timbul setelah mengkonsumsi MSG. Misalnya MSG-Symptom Complex yang timbul setelah satu jam mengkonsumsi MSG sebesar 3 g melalui makanan, terutama jika dikonsumsi dalam kondisi perut kosong. MSG Symptom complex ditandai dengan rasa terbakar dan kebas di belakang leher, lengan, dan dada, hangat di wajah dan pundak, rasa nyeri di dada, sakit kepala, mual, denyut jantung meningkat, bronchospasme (Maidawilis, 2010). Federation of American for Experimental (FASEB) juga melaporkan adanya dua kelompok orang yang cenderung mengalami MSG- Symptom Complex, kelompok pertama orang yang tidak toleran terhadap konsumsi MSG dalam jumlah besar dan kelompok kedua orang dengan penyakit asma tidak terkontrol, orang-orang ini cenderung mengalami MSG- Symptom Complex, perburukan gejala asma yang bersifat sementara setelah mengkonsumsi MSG dengan dosis antara 0,5 g sampai 2,5 g (Geha, 2000).

MSG berlebihan pada sebagian populasi masyarakat dapat menimbulkan beberapa gejala sakit antara lain rasa panas, rasa tertusuk-tusuk pada wajah dan leher, dada sesak, dan bercak pada kulit yang dikenal dengan sebutan *Chinese Restaurant Syndrome* (Setiawati, 2008).

Nizamuddin (2000) telah melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian MSG per oral pada berat badan dan berat testis tikus jantan dengan dosis 2400 mg/kg, 4800 mg/kg, dan 9600 mg/kg berat badan pada kelompok perlakuan ke tiga yang

masing-masing dosis dilarutkan dalam 4 mg akuades. Hasil penelitian setelah 49 hari ternyata MSG dapat mempengaruhi berat testis tikus.

Selain itu, pemberian MSG secara suntikan subkutan pada mencit baru lahir dapat menimbulkan terjadinya nekrosis neuron akut pada otak termasuk hipotalamus yang ketika dewasa akan mengalami hambatan perkembangan tulang rangka, obesitas, dan sterilitas pada betina (Ganesan *et al.*, 2013). Selanjutnya, dilaporkan bahwa MSG menyebabkan penurunan kandungan histamin yang signifikan dalam sistem saraf pusat (Aisha, 2014). Penelitian lain menyebutkan bahwa MSG dapat menyebabkan lesi pada otak (Aisha, 2014).

Sebuah penelitian yang dilakukan pada mencit betina yang diberikan perlakuan penyuntikan MSG secara subkutan pada masa postnatal menyebutkan bahwa MSG menyebabkan stres oksidatif yang memberikan dampak pada penurunan berat kelenjar – kelenjar endokrin yaitu pada kelenjar hipofisis, tiroid, ovarium, dan testis (Trentini dan Botticelli dalam Maidawilis, 2010). Selain itu, beberapa peneliti lain mengatakan bahwa MSG dapat menyebabkan gangguan endokrin melalui mekanisme hipotalamus-hipofisis (Hermanussen *et al.*, 2006).

Kelenjar hipofisis disebut sebagai *master gland* karena mensekresi hormon yang selanjutnya akan mengendalikan sekresi hormon oleh kelenjar endokrin lainnya. Kelenjar hipofisis lobus anterior menghasilkan beberapa hormon mayor diantaranya *growth hormone* (GH) dan *thyroid-stimulating hormone* (TSH). Sekresi dari GH dan TSH distimulasi oleh hormon – hormon dari kelenjar hipotalamus yaitu *growth hormone-releasing hormone* (GHRH) dan *thyrotrophin-releasing hormone* (TRH). Mekanisme inilah yang disebut mekanisme hipotalamus-hipofisis (Griffin dan Ojeda, 2004). Pemberian MSG dapat menyebabkan gangguan endokrin seperti pada GH dan TSH melalui mekanisme ini (Hermanussen *et al.*, 2006).

Gangguan pada GH dapat mempengaruhi perkembangan dan mineralisasi gigi, sebab reseptor GH terdapat pada sel preameloblas yang sedang membelah dan sel preodontoblas yang sedang berdiferensiasi (Sasaki, 2003). Kekurangan GH dapat menyebabkan penurunan ekspresi RNA pada preameloblas dan preodontoblas

(Sasaki, 2003). Disamping itu, kekurangan hormon ini juga mengakibatkan penurunan sintesis proteoglikan. Proteoglikan akan membentuk matriks ekstraseluler yang berperan penting dalam mineralisasi gigi. Sehingga gangguan pada proses ini dapat mempengaruhi perkembangan dan mineralisasi gigi (Sasaki, 2003).

Gangguan pada TSH mempengaruhi sekresi pada kelenjar yang distimulasinya yaitu kelenjar tiroid (Griffin dan Ojeda, 2004). Prenatal ataupun postnatal hipotirodism yang dapat menghambat proses perkembangan gigi, yang akan mengarah pada defek enamel dalam masa pertumbuhan selanjutnya (Sasaki, 2003).

2.5 Tahapan Perkembangan Gigi

Perkembangan gigi dimulai sejak dalam kandungan sekitar 28 hari intrauterin (Holt *et al.*, 2000). Gigi sulung berkembang pada minggu ke-6 dan minggu ke-8 sedangkan gigi permanen berkembang pada minggu ke-20 (Markman, 2010). Tahap mineralisasi pada gigi sulung dimulai pada minggu ke-14 IU untuk selanjutnya seluruh gigi sulung akan termineralisasi secara sempurna setelah kelahiran. Gigi insisivus permanen dan molar pertama permanen termineralisasi pada waktu setelah kelahiran, setelah itu baru gigi – gigi permanen lain akan mengalami mineralisasi (Holt *et al.*, 2000).

Secara embriologi, gigi berasal dari dua jaringan. Ektoderm yang akan membentuk enamel dan mesoderm yang akan membentuk dentin, sementum, dan pulpa (Mokhtar, 2005). Epitel ektoderm yang melapisi kavum oris mengalami penebalan sepanjang tepi dari bakal rahang atas dan rahang bawah. Hal ini terjadi pada minggu ke-5 masa embrio. Penebalan ini terdiri atas dua lapisan yang meluas sampai ke mesenkim, dimana lapisan pertama yang berada di sebelah labial akan memisahkan diri dan membentuk ruangan di antara bibir dan prosesus alveolaris dari rahang. Sedangkan lapisan kedua yaitu di sebelah lingual akan membentuk gigi yang disebut lamina dentalis. Pada lamina dentalis, terjadi penebalan yang berbentuk kuncup dan masuk ke dalam jaringan pengikat (mesoderm). Kuncup – kuncup ini merupakan benih – benih gigi. Terdapat 10 benih – benih gigi dalam masing –

masing tulang rahang yang akan menjadi gigi sulung. Pada awal minggu ke-10 lamina dentalis yang masih tinggal akan membentuk kuncup – kuncup lagi yang akan menjadi benih – benih gigi permanen (Mokhtar, 2005).

Selanjutnya, benih gigi tersebut akan muncul ke dalam rongga mulut atau yang biasa disebut dengan erupsi gigi. Erupsi gigi adalah suatu proses pergerakan gigi secara aksial yang dimulai dari tempat perkembangan gigi di dalam tulang alveolar sampai akhirnya mencapai posisi fungsional di dalam rongga mulut. Erupsi gigi merupakan suatu proses yang berkesinambungan dimulai dari tahap pembentukan gigi sampai gigi muncul ke rongga mulut (Berkovitz *et al.*, 2009). Erupsi gigi terjadi setelah formasi dan mineralisasi mahkota terbentuk sempurna tetapi sebelum akar terbentuk sempurna. Gigi tumbuh dari dua tipe sel, yaitu epitel oral dari enamel organ yang akan membentuk enamel dan sel mesenkim dari papilla dental yang akan membentuk dentin (Nasution, 2008). Mahkota dan bagian akar dibentuk sebelum gigi tersebut erupsi. Mahkota dibentuk terlebih dahulu, kemudian baru pembentukan akar (Harshanur, 1995).

Perkembangan gigi dibagi dalam 3 tahap, yaitu : tahap pra-erupsi, tahap pra-fungsional (tahap erupsi), dan tahap fungsional (Berkovitz *et al.*, 2009). Tahap pra-erupsi, yaitu saat mahkota gigi terbentuk dan posisinya dalam tulang rahang cukup stabil (intraosseus), ketika akar gigi mulai terbentuk dan gigi mulai bergerak di dalam tulang rahang ke arah rongga mulut, penetrasi mukosa, dan pada saat akar gigi terbentuk setengah sampai tiga perempat dari panjang akar (Wahono dan Soenawan, 2009). Menurut Mokhtar (2005), tahapan pra-erupsi terdiri dari :

a. Inisiasi (Bud Stage)

Tahap inisiasi terjadi pada minggu ke-10 IU, merupakan penebalan jaringan ektodermal dan pembentukan kuntum gigi yang dikenal sebagai enamel organ. Perubahan yang paling nyata dan paling dominan adalah proliferasi jaringan ektodermal dan jaringan mesenkimal yang terus berlanjut.

b. Proliferasi (Cap Stage)

Dimulai pada minggu ke-11 IU, sel-sel organ enamel masih terus berproliferasi sehingga organ enamel lebih besar sehingga berbentuk cekung seperti topi. Bagian yang cekung diisi oleh kondensasi jaringan mesenkim dan berproliferasi membentuk papila dentis yang akan membentuk dentin. Papila dental yang dikelilingi oleh organ enamel akan berdiferensiasi menjadi pulpa. Jaringan mesenkim di bawah papila dental membentuk lapisan yang bertambah padat dan berkembang menjadi lapisan fibrosa yaitu kantong gigi (dental saku) primitif.

c. Histodiferensiasi (Bell Stage)

Tahap bel merupakan perubahan bentuk organ enamel dari bentuk topi menjadi bentuk bel. Perubahan histodiferensiasi mencakup perubahan sel-sel perifer papila dental menjadi odontoblas (sel-sel pembentuk dentin). Ada empat lapisan sel yang dapat dilihat pada tahap bell, yaitu Outer Enamel Epithelium, Retikulum Stelata, stratum Intermedium, dan Inner Enamel Epithelium.

d. Morfodiferensiasi

Morfodiferensiasi adalah susunan sel-sel dalam perkembangan bentuk jaringan atau organ. Perubahan morfodiferensiasi mencakup pembentukan pola morfologi atau bentuk dasar dan ukuran relatif dari mahkota gigi. Morfologi gigi ditentukan bila epitel email bagian dalam tersusun sedemikian rupa sehingga batas antara epitel email dan odontoblas merupakan gambaran dentinoenamel junction yang akan terbentuk. Dentinoenamel junction mempunyai sifat khas pada setiap gigi, sebagai suatu pola tertentu pada pembiakan sel.

e. Aposisi

Aposisi adalah pengendapan matriks dari struktur jaringan keras gigi (email, dentin, dan sementum). Pertumbuhan aposisi ditandai oleh pengendapan yang teratur dan berirama dari bahan ekstraseluler yang mempunyai kemampuan sendiri untuk pertumbuhan yang akan datang. Gangguan pada tahap pengendapan matriks ini dapat menyebabkan kelainan seperti enamel hipoplasia.

f. Kalsifikasi

Kalsifikasi terjadi dengan pengendapan garam-garam kalsium anorganik selama pengendapan matriks. Kalsifikasi akan dimulai di dalam matriks yang sebelumnya telah mengalami deposisi dengan jalan presipitasi dari bagian ke bagian lainnya dengan penambahan lapis demi lapis. Gangguan pada tahap ini dapat menyebabkan kelainan pada kekerasan gigi seperti hipokalsifikasi.

Selanjutnya, gigi akan mengalami tahap erupsi dan tahap fungsional. Erupsi gigi adalah suatu proses pergerakan gigi secara aksial yang dimulai dari tempat perkembangan gigi di dalam tulang alveolar sampai akhirnya mencapai posisi fungsional di dalam rongga mulut (Berkovitz *et al.*, 2009).

2.6 Struktur Enamel Gigi

Enamel merupakan jaringan tubuh dengan susunan kimia kompleks yang mengandung 97% mineral, 1% air dan 2% bahan organik (Pintauli dan Hamada, 2007). Enamel dibentuk oleh sel yang disebut sebagai ameloblast, yang berasal dari lapisan embrio yang dikenal sebagai ectoderm. Enamel melapisi bentuk anatomi mahkota gigi dan ketebalannya berbeda pada setiap daerah. Enamel lebih tebal pada bagian incisal dan oklusal gigi dan semakin lama semakin menipis pada servikal gigi sampai mencapai sementoenamel junction (Berkovitz *et al.*, 2009).

Enamel bersifat semitranslusen, berwarna putih kekuningan sampai putih keabu-abuan tergantung pada ketebalan enamel. Tingkat translusensi enamel juga berhubungan dengan tingkat kalsifikasi dan homogenitas. Warna enamel penting dalam menentukan perubahan fisikokimia yang terjadi karena tidak normalnya kondisi gigi (Sturdevant *C et al.*, 2001).

Komposisi kimia enamel mengandung 97% mineral, 1% air dan 2% bahan organik. Bagian luar enamel mengalami mineralisasi yang lebih sempurna dan mengandung banyak fluor, fosfat, dan sedikit karbonat dan air. (Pintauli dan Hamada, 2007). Zat anorganik yang utama berupa hidroksiapatit [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] sekitar 90

- 92% dari volumenya yang tersusun atas komponen – komponen kalsium fosfat (Berkovitz *et al.*, 2009).

Secara struktural enamel terdiri atas jutaan enamel rod atau prisma yang merupakan struktur komponen terluas. Prisma ini memanjang dari arah perbatasan enamel dan dentin ke permukaan enamel, serta saling mengikat satu sama lain. Pada potongan melintang tampak seperti *keyhole* yang terdiri atas kepala dan ekor. Arah prisma ke permukaan tidak lurus melainkan bergelombang. Pada bagian kepala prisma terdapat kristal hidroksiapatit. Kepadatan kristal enamel sangat menentukan kelarutan enamel. Semakin banyak enamel mengandung mineral, maka kristal enamel semakin padat, sedikit porositas dan enamel akan semakin resisten terhadap karies (Pintauli dan Hamada, 2007).



Gambar 2.2 Enamel Rod Potongan Melintang

Sumber: Sturdevant *et al.*, 2001

2.7 Kerusakan Struktur Enamel

Defek enamel atau kerusakan struktur enamel merupakan suatu keadaan menurunnya kualitas enamel yang menyebabkan kerapuhan pada enamel yang dapat mempermudah terjadinya kerusakan pada struktur gigi. Salah satu macam defek enamel menurut manifestasi klinisnya adalah hipoplasia enamel (Seow *et al.*, 2005). Hipoplasia enamel adalah kerusakan pada enamel gigi yang mengakibatkan berkurangnya komposisi enamel berbanding normal. Kerusakan ini dapat berupa

porositas pada permukaan gigi, baik terlokalisir maupun pada seluruh gigi dan dapat juga menyebabkan bentuk gigi yang tidak sempurna. Defek enamel ini menyebabkan permukaan enamel menjadi kasar dan memudahkan penumpukan plak. Penumpukan plak pada gigi yang mengalami defek ini akan menjadi faktor predisposisi pada pembentukan karies (Seow *et al.*, 2005).

Kerusakan enamel dapat terjadi karena adanya gangguan yang disebabkan baik faktor herediter, dan lingkungan baik lingkungan lokal maupun lingkungan sistemik. Dalam hal faktor genetik yang menjadi penyebab kegagalan perkembangan gigi, terdapat >100 kelainan genetik yang berhubungan kegagalan perkembangan gigi sehingga terjadi kelainan struktur enamel (Small dan Murray, 1978). Sedangkan faktor lingkungan meliputi faktor lokal dan sistemik dapat terjadi pada saat prenatal, pascanatal, neonatal (Cameron, 2003).

2.8 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Data biologis tikus adalah sebagai berikut:

Lama hidup	: 2-3 tahun, dapat sampai 4 tahun
Lama produksi ekonomis	: 1 tahun
Lama hamil	: 20-22 hari
Umur dewasa	: 40-60 hari
Umur dikawinkan	: 10 minggu (jantan dan betina)
Siklus kelamin	: polietrus
Siklus estrus	: 4-5 hari
Lama estrus	: 9-20 jam
Berat lahir	: 5-6 g
Jumlah anak	: Rata-rata 9-20 ekor

(Smith dalam Noviantari, 2009).

Tikus wistar merupakan bagian dari tikus albino yang termasuk spesies *Rattus norvegicus*. Tikus ini memiliki ciri – ciri kepala yang lebar, telinga yang panjang dan ekor yang selalu lebih pendek daripada panjang tubuhnya. Tikus merupakan hewan

yang digunakan secara ekstensif sebagai hewan coba untuk mempelajari biologi dan patologi dari jaringan rongga mulut. Spesies tikus ini telah berguna dalam berbagai penelitian kedokteran gigi. Tikus ini dapat berguna untuk menjelaskan informasi biologis yang berharga demi membuktikan pengertian dan mekanisme dasar dari sebuah penyakit. Di samping itu tikus ini juga berfungsi sebagai fasilitas untuk eksperimen secara klinis dan epidemiologi yang dimaksudkan untuk memberikan informasi yang dapat diaplikasikan secara langsung pada manusia. Dalam hal ini tikus putih merupakan hewan mamalia yang sering digunakan dalam suatu percobaan dengan perlakuan secara konvensional dikarenakan tikus dapat digunakan untuk mewakili mamalia termasuk manusia (Baker *et al.*, 1980).

Seperti halnya manusia, tikus juga mengalami siklus estrus. Siklus estrus tikus berlangsung selama 4-5 hari yang terjadi sepanjang tahun. Siklus estrus terdiri dari empat tahap yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Pemeriksaan mikroskopis morfologi sel dari smear vagina adalah metode yang secara luas digunakan untuk mendeteksi fase siklus estrus pada tikus. Pada fase proestrus, sel epitel berbentuk bulat, terdapat inti dan berbentuk oval dan berada di tengah sel. Fase ini berlangsung selama 12 jam. Fase estrus pada tikus berdurasi 9-15 jam. Pada fase ini bentuk sel epitel poligonal, pipih, sitoplasma luas, tidak berinti atau inti sangat kecil dan gelap (piknotik), sel superfisial tanpa inti seringkali mengalami kornifikasi, pinggiran sel melipat, kadang ditemukan leukosit dalam jumlah yang sangat sedikit. Metestrus terjadi setelah ovulasi dan berakhir kira-kira 21 jam. Selama metestrus, sitologi vagina mengandung banyak leukosit dan sel yang berinti, serta sel *cornified*. Diestrus adalah fase yang paling lama berakhir setelah 57 jam, *smear vagina* mengandung leukosit primer dan ditandai dengan sel epitel terkecil dengan bentuk bulat atau agak bulat. Dari keseluruhan fase pada siklus estrus, fase estrus adalah waktu terbaik ketika tikus betina siap menerima untuk melakukan kopulasi (Suckow *et al.*, 2006).

2.9.1 Gigi Tikus

Tikus memiliki 16 jumlah gigi yaitu terdiri dari gigi insisivus atas yang berjumlah 2, insisivus bawah berjumlah 2, molar atas berjumlah 3 dan molar bawah

yang juga berjumlah 3. Pada pertumbuhan dan perkembangannya, gigi tikus memiliki kesamaan dengan manusia. Gigi tikus tumbuh dan berkembang melalui interaksi yang berkelanjutan antara *dental epithelium* dan *neural crest*. Pembentukan gigi tikus dimulai dengan fase inisiasi (*placode/initiation*), *bud stage*, *cap stage*, dan *bell stage* (Pagella *et al.*, 2014).

Fase inisiasi terjadi pada janin tikus berusia 10-11 hari intra uterin. *Bud stage* terjadi pada usia 12-13 hari intra uterin. *Cap stage* terjadi pada janin tikus dalam usia 14-15 hari intra uterin dan *bell stage* terjadi pada usia 16 hari intra uterin sampai *postnatal* hari ke-7.

Gigi insisivus tikus terus tumbuh selama hidupnya oleh karena itu tikus mengerat agar pertumbuhan gigi insisivusnya tetap konstan. Waktu erupsi untuk gigi tikus putih bervariasi hingga umur 25 hari. Gigi insisivus yang pertama erupsi yaitu pada umur 8-10 hari setelah lahir. Molar pertama dan molar kedua erupsi sekitar umur 19-21 hari. Gigi molar ketiga erupsi setelah dua minggu kemudian setelah erupsi gigi molar pertama dan molar kedua. Gigi insisivus secara permanen terus tumbuh tanpa ketentuan sedangkan gigi molar memiliki batas waktu dalam hal perkembangannya (Pagella *et al.*, 2014).

2.9 Scanning Electron Microscope (SEM)

Scanning Electron Microscope (SEM) adalah alat yang digunakan untuk mempelajari morfologi permukaan / ukuran butiran. Pengamatan morfologi permukaan dalam 3 dimensi, resolusi tinggi dan analisa Kimia. Prinsip kerja SEM (*Scanning Electron Microscope*) adalah sebagai berikut:

1. *Electron Gun* (Sumber Elektron / Penembak elektron)

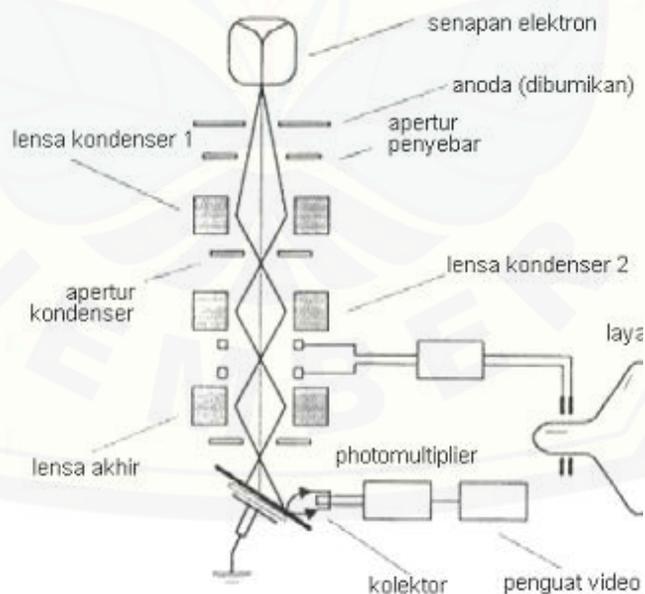
Penembak elektron yang terdiri dari filamen tungsten, penembak elektron ini digunakan untuk menghasilkan elektron dalam suatu volume tertentu dengan energi yang dapat ditentukan dengan mengatur arus listrik ke filamen sehingga terjadi pelepasan elektron.

2. *Demagnetification System* (Perangkat Demagnetisasi)

Perangkat Demagnetisasi terdiri dari gabungan lensa-lensa elektromagnetik yang digunakan untuk memfokuskan E-Beam menjadi sangat kecil pada saat mencapai sampel.

3. *Scan Unit* (Sistem Pelarikan)

Pembentukan Gambar dengan menggunakan prinsip *scanning*, dimana elektron diarahkan ke objek, gerakan berkas tersebut mirip dengan “Gerakan Membaca”. *Scan unit* dibangkitkan oleh *scanning coil*, sedangkan hasil interaksi berkas elektron dengan sampel menghasilkan *Secondary Electron* (SE) dan elektron *Backs Scattered* (BSc), diterima detektor SE/BSc, di ubah menjadi sinyal, data sinyal diperkuat oleh *Video Amplifier* kemudian disinkronkan oleh *scanning circuit* terbentuklah Gambar pada Tabung Sinar Katoda (CRT). Di layar CRT inilah dapat terlihat gambar struktur objek yang sudah diperbesar. Selain itu, mikroskop ini dapat digunakan untuk melihat objek dari sudut pandang 3 dimensi sehingga pada proses operasinya tidak perlu dilakukan penipisan pada sampel (Sinuhaji dan Marlianto, 2012).



Gambar 2.3 Diagram Skematik Fungsi Dasar dan Cara Kerja SEM

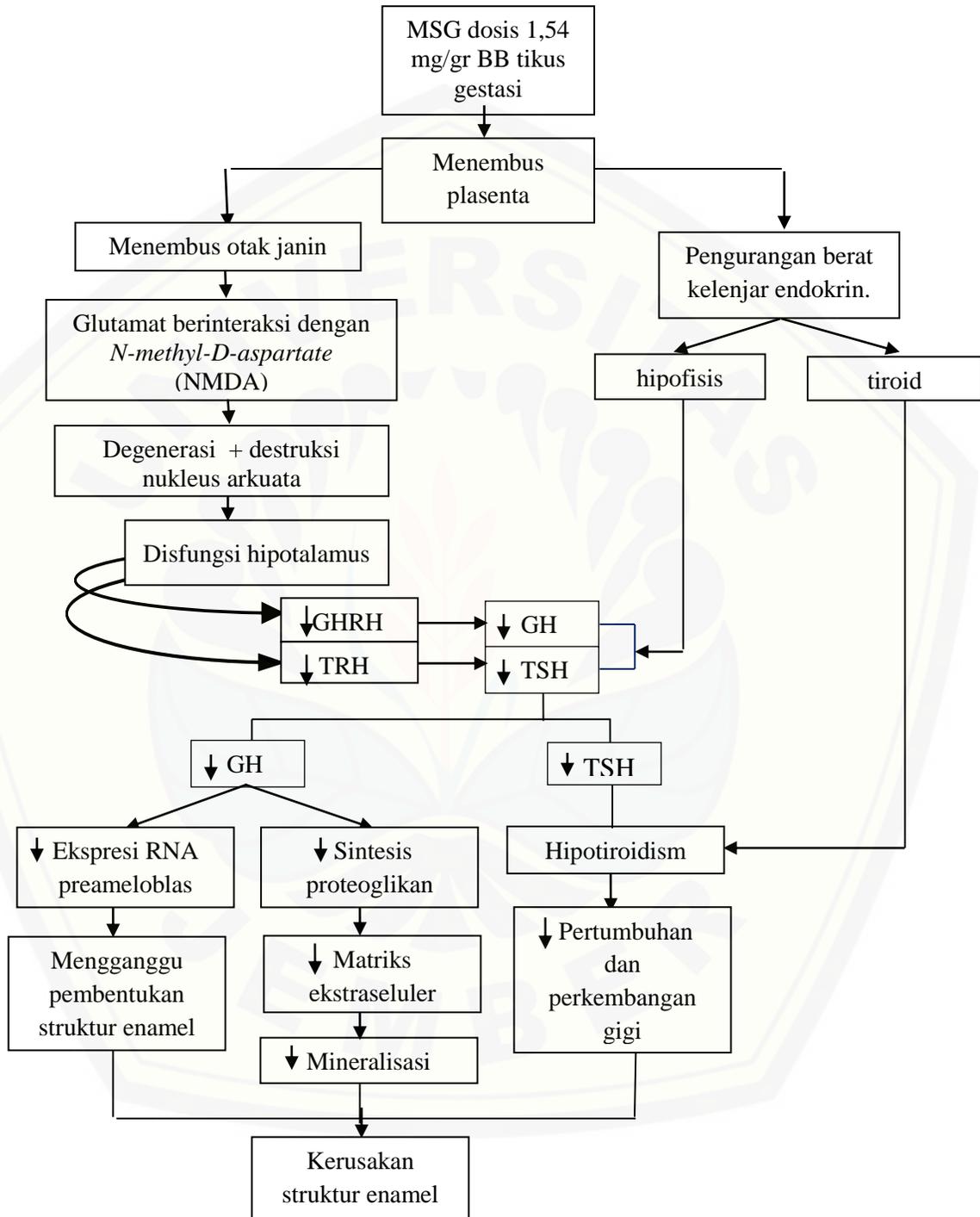
Sumber : Nuha, 2008

2.10 Hipotesa

Terdapat kerusakan struktur enamel pada gigi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) generasi pertama (F1) yang induknya diberikan MSG selama periode hamil maupun periode hamil dan menyusui dibandingkan kelompok kontrol.



2.11 Kerangka Konseptual



Gambar 2.4 Kerangka Konsep Penelitian

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*. Penelitian eksperimen pada prinsipnya dapat didefinisikan sebagai metode sistematis guna membangun hubungan yang mengandung fenomena sebab akibat (*causal-effect relationship*) (Sukardi, 2011). Metode eksperimen adalah metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang dikendalikan (Sugiyono, 2011).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus-Desember 2015.

3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember dan uji SEM untuk melihat struktur enamel gigi tikus dilakukan di Laboratorium Sentral FMIPA Universitas Negeri Malang.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah periode pemberian *Monosodium glutamat* (MSG).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah struktur enamel gigi tikus yang induknya diberikan *Monosodium glutamat* selama hamil dan masa menyusui.

3.3.3 Variabel Terkendali

- a. Anak tikus wistar *Rattus norvegicus* generasi pertama (F1)

- b. Umur tikus wistar : 21 hari
- c. Jenis kelamin tikus wistar : Jantan
- d. Pakan induk tikus wistar : Pellet
- e. Dosis MSG : 1,54 mg/gr BB
- f. Merk MSG : AJI-NOMOTO

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium glutamat adalah garam sodium dari asam glutamat yang terdiri dari 78% asam glutamat, 22% natrium dan air, merk yang digunakan adalah AJI-NOMOTO. Diberikan peroral menggunakan sonde lambung dengan dosis 1,54 mg/gr BB sebanyak sekali dalam sehari.

3.4.2 Kerusakan Struktur Enamel

Gambaran kerusakan dari kumpulan pangkal enamel rod yang kontak secara langsung dengan rongga mulut yang porositasnya akan diamati menggunakan SEM. Hasil dari SEM selanjutnya diolah dengan menggunakan *software ImageJ* 1.49V dan hasil yang didapatkan adalah persen area porositas enamel.

3.4.3 Periode Pemberian MSG

Jangka waktu pemberian MSG secara peroral pada induk tikus wistar, yaitu dilakukan setiap hari sejak hari ke-5 kehamilan induk tikus sampai partum pada kelompok kedua, dan sampai masa laktasi (21 hari) pada kelompok ketiga.

3.4.4 Induk Tikus Wistar

Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina dewasa usia 2-3 bulan yang telah dikumpulkan dengan jantan dan dinyatakan hamil setelah smear vagina. Dibedakan menjadi 3 kelompok dimana kelompok 1 tidak diberi MSG, kelompok 2 diberi MSG secara peroral dengan menggunakan sonde lambung dari hari ke-5 kehamilan sampai partum, dan kelompok 3 diberikan MSG secara peroral dengan menggunakan sonde lambung dari hari ke-5 kehamilan sampai masa laktasi (21 hari).

3.4.5 Anak Tikus Wistar

Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) neonatal generasi pertama berjenis kelamin jantan yang berasal dari induk seluruh kelompok perlakuan. Didekapitasi pada usia 21 hari dan diamati porositas enamel gigi molar 1 kanan bawahnya menggunakan SEM.

3.5 Populasi dan Sampel Penelitian

3.5.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) neonatal generasi pertama (F1) dari induk tikus kelompok kontrol dan induk tikus kelompok yang diinduksi *Monosodium glutamat* selama masa hamil dan menyusui.

3.5.2 Sampel Penelitian

a. Kriteria Sampel

Kriteria induk tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Tikus wistar betina
2. Usia 2-3 bulan
3. Berat badan 200-250 gram

Kriteria anak tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Anak tikus wistar *Rattus norvegicus* generasi pertama (F1)
2. Jenis kelamin jantan
3. Usia 21 hari
4. Kondisi sehat dan tidak memiliki kelainan fisik
5. Gigi molar rahang bawah erupsi sempurna

b. Jumlah Sampel Penelitian

Jumlah sampel didapatkan dari perhitungan rumus sebagai berikut (Daniel, 2005) :

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

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

Z = nilai Z pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $Z = 1,96$

σ = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditoleransi

Dengan asumsi bahwa nilai σ sama dengan d ($\sigma = d$), dikarenakan nilai σ jarang sekali diketahui sehingga harus menduganya maka :

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

$$n \geq (1,96)^2$$

$$n \geq 3,84$$

$$n \geq 4$$

Hasil yang diperoleh jumlah sampel minimal 4, Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan adalah 5 sampel untuk masing-masing kelompok, maka didapatkan total 15 sampel gigi molar tikus neonatal.

c. Pengelompokan Sampel

Tikus dibagi menjadi tiga kelompok yang terdiri dari 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan.

- Kelompok 1 : tikus neonatal generasi pertama (F1) dari induk tikus yang tidak diberikan MSG
- Kelompok 2 : tikus neonatal generasi pertama (F1) dari induk tikus yang diberikan MSG peroral setiap hari mulai hari ke-5 kehamilan sampai artum. Post partum dihentikan.

- Kelompok 3 : tikus neonatal generasi pertama (F1) dari induk tikus yang diberikan MSG peroral setiap hari mulai hari ke-5 kehamilan sampai masa laktasi atau menyusui (hingga usia 21 hari post partum).

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

- a. Kandang untuk pemeliharaan tikus putih
- b. Tempat pakan dan botol minum tikus
- c. Timbangan untuk mengukur berat badan tikus (*Triple Beam Balance*, China)
- d. Timbangan untuk mengukur berat MSG (*Ohauss*, USA)
- e. Sarung tangan dan masker
- f. Pipet tetes
- g. *Object glass*
- h. *Deck glass*
- i. Mikroskop cahaya (*Olympus*, Jepang)
- j. *Syringe*
- k. Spidol permanen (*Snowman*)
- l. Gelas kaca
- m. Gelas ukur
- n. Gelas kimia
- o. Spatula kaca
- p. Label
- q. Sonde lambung 3ml
- r. Pinset
- s. Gunting bedah
- t. Scalpel
- u. *Tissue*
- v. Tabung sampel
- w. Buku catatan penelitian

- x. *Scanning Electron Microscope (Inspect F50, USA)*

3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Tikus wistar (*Rattus norvegicus*)
- b. Monosodium glutamat (MSG)
- c. Larutan saline (NaCl)
- d. Alkohol 70%
- e. Aquades steril
- f. larutan *formalin* 10%
- g. Pakan Tikus : *Pellet*

3.7 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

3.7.1 Konversi Dosis

Penentuan dosis MSG mengacu pada dosis yang memicu pengurangan berat kelenjar tiroid pada mencit, yaitu 2,2 mg/gr BB (Trentini dan Botticelli dalam Maidawilis 2010). Dosis MSG pada tikus dihitung dengan menggunakan tabel konversi mencit ke tikus adalah 7,0. Berat rata-rata mencit adalah 20 gram sehingga diperoleh konsumsi dosis MSG mencit :

$$2,2 \text{ mg/gr} \times 20 \text{ gr} = 44 \text{ mg/BB}$$

Maka dosis MSG untuk tikus adalah,

$$7,0 \times 44 \text{ mg/BB} = 308 \text{ mg/BB}$$

Berat rata-rata tikus adalah 200 gr, artinya dosis pada tiap gram berat badan tikus adalah 1,54 mg/gr BB (Harmita *et al*, 2008). Jika dosis MSG untuk tikus ini dikonversikan ke manusia maka diperoleh 246,4 mg/kg BB yang artinya dua kali lipat dari dosis batas normal (120 mg/kg BB) (Budiarso, 2003).

Tabel 3.1 Konversi Dosis

Hewan percobaan	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,2
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

3.7.2 Persiapan Hewan Coba

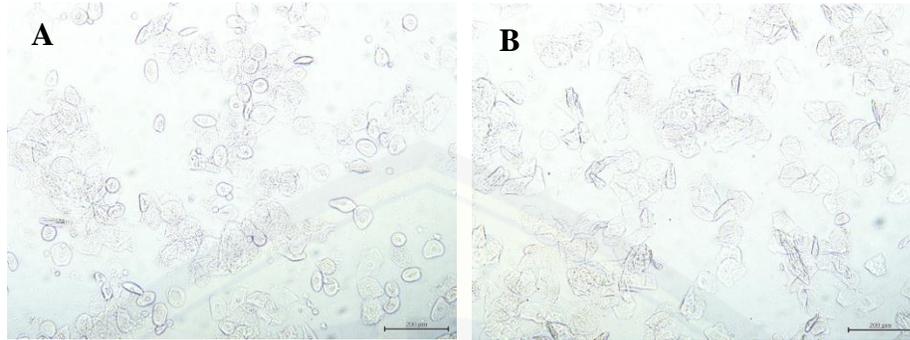
Tikus betina *Rattus norvegicus* berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 200-250 gram dipelihara dan ditempatkan dalam kandang. Total jumlah tikus betina yang digunakan adalah 18 tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan. Masing-masing kandang berisi enam tikus betina hamil dengan kelompok perlakuan yang sama. Induk yang telah melahirkan beserta anaknya akan dilektakkan pada kandang yang terpisah dari kelompoknya dan diberi label nama kelompok tikus.

3.7.3 Pembuatan Preparat Vaginal Smear

Smear vagina dilakukan dengan *pipette smear technique* karena teknik ini hanya memerlukan waktu yang pendek, tanpa perlu pewarnaan dan fiksasi serta risikonya sangat rendah menunjukkan *pseudopregnancy*.

1. Metode ini dilakukan dengan mengambil sel dari lapisan vagina. Direkomendasikan menggunakan pipet sekali pakai yang terbuat dari plastik yang lembut dengan ujung internalnya sekitar 1,5 mm. Pada ujung pipet diisi dengan larutan saline atau air distilasi 0,2 ml.

2. Tikus betina yang akan dilakukan smear vagina dipegang disekeliling toraks dan permukaan perut bagian atas, dengan tangan kanan memegang pipet dan menahan ekornya untuk memberikan dukungan tambahan dan membantu mencegah tikus bergerak.
3. Ujung pipet dimasukkan ke dalam vagina sedalam 2-5 mm dan cairan vagina diambil dan kembali memasukkan pipet 2-3 kali dengan tekanan yang ringan dan melepaskan bola pipet. Jika cairan vagina dalam pipet terlihat berawan atau berwarna putih setelah pengambilan pertama, maka pengambilan berikutnya tidak dibutuhkan.
4. Cairan vagina dalam pipet kemudian diletakkan pada slide atau *object glass* 1-2 tetes. Ujung pipet diletakkan di atas slide atau *object glass* pada sudutnya ketika menempatkan sampel di atas slide hal ini bertujuan untuk mengontrol volume dan mencegah kontaminasi yang mungkin terjadi jika tetesan dari sampel dikeluarkan dari ketinggian.
5. Dua smear dapat ditempatkan pada satu *object glass* pada masing-masing ujungnya kemudian ditutup dengan *deck glass* agar memastikan kedalaman smear sama rata atau seragam, selain itu ketika dilakukan pemeriksaan di bawah mikroskop lebih mudah membuatnya fokus dan mencegah bersatunya smear selama pergerakan *object glass* di bawah mikroskop.
6. Kemudian smear pada *object glass* diberi label nomor sesuai tanda yang diberikan pada tikus, tanggal dan jam dilakukannya smear. Smear di lihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 200x kemudian identifikasi siklus estrus. Jika ditemukan adanya karakteristik sel pada siklus estrus, tikus betina dimasukkan ke dalam kandang jantan dan pagi hari di lakukan lagi smear vagina dengan cara yang sama untuk memeriksa adanya sperma jantan. Jika ditemukan adanya sperma pada hasil smear vagina, maka dihitung sebagai hamil hari ke-0 (Krinke, 2000).



Gambar 3.1 Fase Proestrus [A], Fase Estrus [B]

3.7.4 Perlakuan Hewan Coba

- a. Pemeriksaan siklus estrus pada induk tikus betina dengan melakukan smear vagina teknik pipet smear.
- b. Apabila ditemukan adanya karakteristik sel pada fase estrus, tikus betina dikumpulkan dengan tikus jantan dalam satu kandang pada sore hari.
- c. Pada pagi hari diperiksa kembali smear vaginanya untuk melihat kehadiran sperma dalam cairan vagina tikus betina. Jika ditemukan adanya sperma, maka dihitung sebagai kehamilan hari ke-0.
- d. Tikus betina yang hamil kemudian dipisahkan dalam kandang yang berbeda dengan tikus betina yang tidak hamil kemudian diberi tanda pada punggung tikus dengan menggunakan spidol permanen. MSG diberikan secara oral menggunakan sonde lambung pada 2 kelompok perlakuan, yang dilakukan setiap hari sejak hari ke-5 kehamilan induk tikus sampai partum pada kelompok kedua, dan sampai masa laktasi pada kelompok ketiga. Induksi MSG dilakukan mulai hari ke-5 tikus hamil karena menunggu embrio tikus mengalami implantasi atau perlekatan di bagian anti-mesometrial uterus. Praimplantasi embrio tikus terjadi pada hari 1-4 kehamilan dan organogenesis terjadi pada hari 6-15 kehamilan. Hal ini dilakukan untuk mencegah teresorpsinya embrio dan berkurangnya fetus hidup oleh karena konsumsi

MSG sebelum terjadinya implantasi embrio tikus menyebabkan peningkatan kematian intrauterus (Sabri *et al.*, 2006).

- e. Anak tikus yang lahir dari kelompok kontrol dan kedua kelompok perlakuan dilakukan dekapitasi pada hari ke-21 postnatal dengan teknik *cervical disclocation*.
- f. Dilakukan pengambilan gigi molar rahang bawah kanan tikus untuk selanjutnya akan dilakukan uji SEM pada struktur enamel gigi tikus.

3.7.5 Persiapan Uji SEM

- a. Rahang bawah kanan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) diambil dan dibersihkan dari jaringan lunak dengan menggunakan *scalpel*, kemudian dilakukan pemotongan pada bagian distal rahang dan bagian insisif.
- b. Gigi molar diambil dan dibersihkan menggunakan sikat gigi dan air bersih kemudian dikeringkan.
- c. Gigi tikus dibersihkan dan dikeringkan hingga benar – benar terbebas dari air.
- d. Dilakukan *coating* dengan emas sebagai pelapis pada sampel dan spesimen *holder*.
- e. Sampel dibersihkan dengan menggunakan *hand blower* kemudian siap dilakukan pengamatan dengan menggunakan SEM.

3.7.6 Uji SEM

- a. Dilakukan persiapan preparat untuk uji SEM
- b. Sampel yang telah diletakkan dalam *holder* dimasukkan ke dalam *specimen chamber*.
- c. Dilakukan pemotretan dengan menggunakan SEM dengan perbesaran 5000x.
- d. Pada masing – masing sampel dilakukan pemotretan pada 5 lapang pandang meliputi bukal, palatal, mesial, distal dan lereng cusp gigi molar tikus.
- e. Gambar yang didapatkan dari uji SEM dilakukan pengolahan gambar dengan menggunakan *software ImageJ 1.49V*.

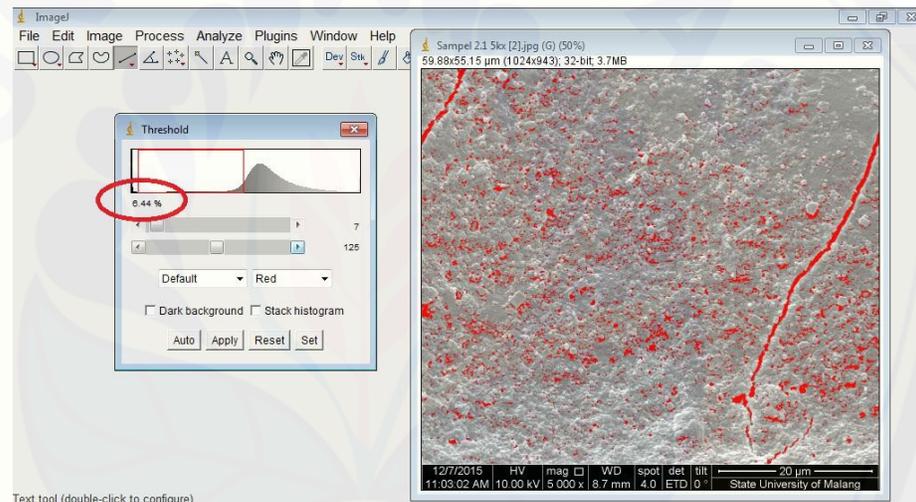


Gambar 3.2 Alat SEM

3.7.7 Pengolahan Gambar

- a. Pengolahan gambar yang didapat dari uji SEM dengan menggunakan *software ImageJ 1.49V*.
- b. Klik *File* pada *toolbar*, kemudian *open* dan pilih gambar yang akan diolah.
- c. Dalam penggunaan *ImageJ* hal pertama yang harus dilakukan untuk menganalisis ukuran area kerusakan enamel dari gambar SEM adalah dengan mengkalibrasi ukuran pixel gambar dengan ukuran acuan. Ukuran acuan biasanya ditampilkan pada hasil gambar SEM berupa garis dengan skala untuk menunjukkan tingkat perbesaran yang dilakukan. Kalibrasi dilakukan dengan cara, setelah gambar dibuka kemudian menggambar garis lurus sepanjang ukuran acuan dengan memilih *icon* garis pada *toolbar*. Set skala yang dipilih dengan klik *Analyze > Set Scale*. Selanjutnya pengaturan disesuaikan dengan ukuran acuan dan satuan

- acuan yang digunakan. Centang kolom global untuk menggunakan skala kalibrasi ini hingga aplikasi *ImageJ* ditutup (Kurniawan *et al.*, 2011).
- d. Tahap selanjutnya adalah menyesuaikan tipe gambar dengan memilih menu *Image > Type > 32-bit*.
 - e. Untuk menganalisa luas area enamel yang porus dapat digunakan menu *Image > Adjust > Threshold*. Dengan mengatur level *Threshlod* maka dapat terlihat area yang porus akan tertutup dengan warna merah (Gambar 3.2).



Gambar 3.3 Pengaturan *Treshold* pada software *ImageJ* 1.49V

- f. Selanjutnya dilakukan analisa luas area enamel yang porus dengan menggunakan menu *Analyze > Set Measurement > centang Area Fraction*. Untuk mengeluarkan hasil perhitungan klik *Analyze > Measurement* dan hasil akan keluar melalui tabel (Kurniawan *et al.*, 2011).

The image shows the 'Results' window in ImageJ. The table contains the following data:

	Area	Mean	Min	Max	Angle	Circ.	Feret	%Area	FeretX	FeretY	FeretAngle	MinFeret	AR	Round	Solidity	Length
1	3302.209	147.389	0	255	0.000	0.003	1392.05	6.438	0.000	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000	0.000

The '%Area' column value '6.438' is circled in red.

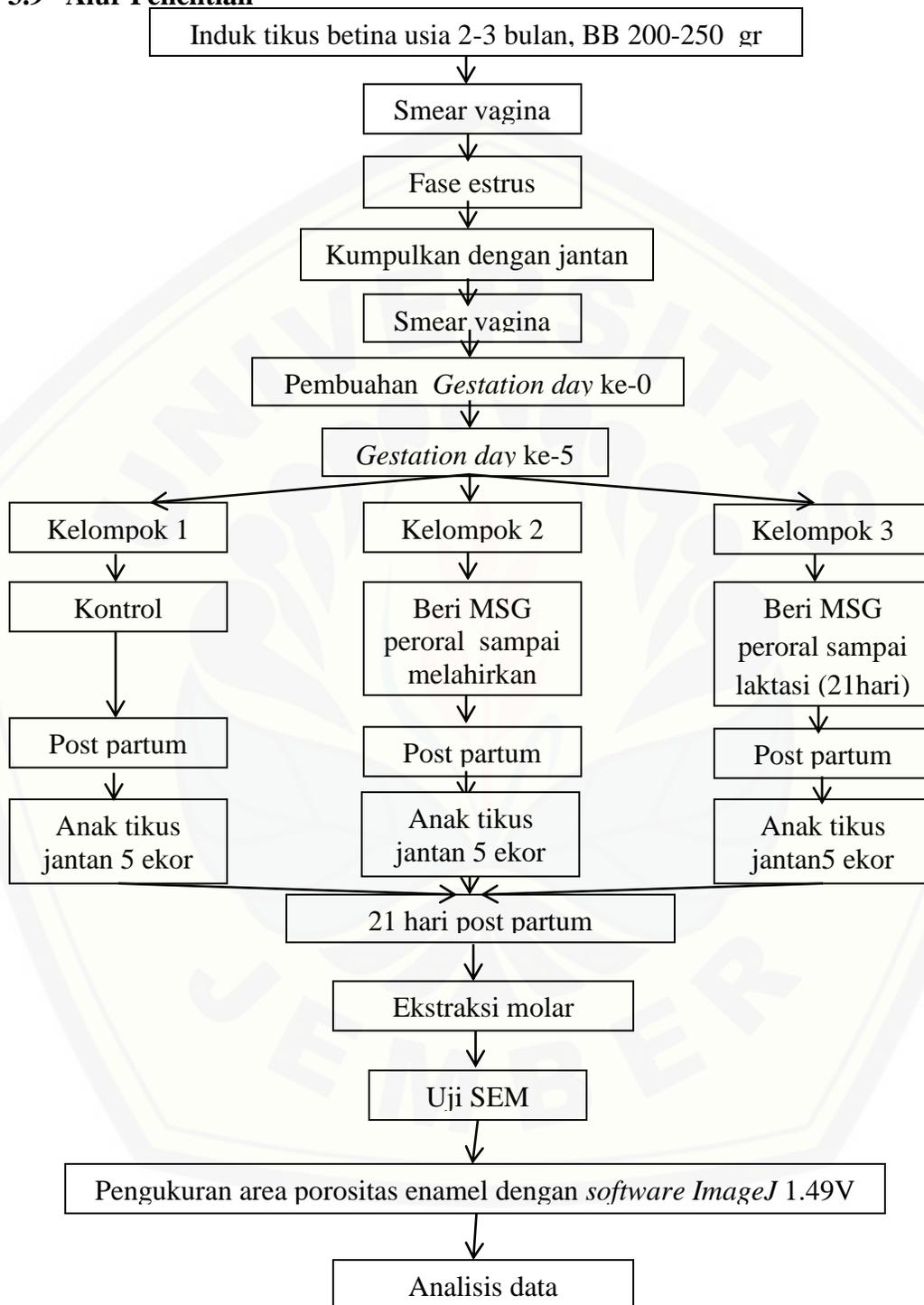
Gambar 3.4 Hasil Pengolahan Gambar dengan Software *ImageJ*

- g. Hasil yang keluar dari 5 lapang pandang dalam tiap sampel dijumlahkan dan dihitung sebagai persen area porositas atau kerusakan struktur enamel pada 1 sampel.

3.8 Analisis Data

Selanjutnya data dari pemeriksaan yang menunjukkan struktur enamel pada masing-masing kelompok diproses dengan program SPSS. Data yang didapatkan akan dianalisis dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* sebagai uji normalitas data, kemudian dilanjutkan dengan uji *Levene* sebagai uji homogenitas data. Jika data berdistribusi normal dan varian data homogen, selanjutnya dianalisa dengan menggunakan uji parametrik *one way ANOVA test* . Kemudian dilakukan uji beda menggunakan *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.5 Bagan Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian MSG pada induk tikus wistar (*Rattus norvegicus*) berpengaruh pada terjadinya kerusakan struktur enamel gigi keturunannya (F1), dalam hal ini terjadi peningkatan area porositas enamel gigi anak tikus yang dilahirkan pada kelompok perlakuan (Kelompok 2 sebesar 13,909% dan Kelompok 3 sebesar 18,147%) dibandingkan kelompok kontrol (Kelompok 1 sebesar 7,039%) .

5.2 Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis MSG yang bervariasi sehingga dapat mengetahui dosis minimal yang dapat memicu kerusakan struktur enamel gigi.
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek MSG terhadap kerusakan struktur enamel gigi yang dihubungkan dengan adanya kerusakan nukleus arkuata hipotalamus, hipotiroid dan gangguan endokrin.
- 5.2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dan paripurna mengenai efek biologis konsumsi MSG pada ibu menyusui.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisha, D. 2014. Monosodium Glutamate Induced Testicular Lesions in Rats (Histological Study). *J MEFS*. Vol.19: 274–280.
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. 2013. *Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Penguat Rasa*. Jakarta: BPOM.
- Baker, G. L., Filer, L. J., Stegink, L. D. 1979. *Factors Influencing Dicarboxylic Amino Acid Content of Human Milk*. New York: Raven Press.
- Baker, H. J., Lindsey, Weisbroth. 1980. *The Laboratory Rats : Vol 1. Biology and Disease*. San Diego: Academic Press Inc.
- Berkovitz, B. K. B., Holland, G. R., Moxham, B.J. 2009. *Oral Anatomy, Histology and Embryology 4th ed*. Toronto: Mosby Elsevier.
- Beyreuther, K., *et al.* 2007. Consensus Meeting: Monosodium Glutamate – An Update. *EUR J CLIN NUTR*. Vol.61: 304–313.
- Budiarso, Iwan, T. 2003. *Waspadalah, Monosodium Glutamate / Vetsin Faktor Potensial Pencetus Hipertensi Dan Kanker*. Tersedia dalam www.medikaholistik.com.
- Cameron, A. C., Widmer, R. P. 2003. *Handbook of Pediatric Dentistry 2nd ed*. New York: Mosby.
- Daniel, W. 2005. *Biostatic a Foundation for Analysis in The Health Science 6th Edition*. Canada: John Wiley and Sons, Inc.
- Dudea, D., Florea, A., Miha, C., Campeanu, R., Nicola, C., Benga, G. 2009. *Rom J Morphol Embryol*. Vol.50(3): 435-440.
- Fahim, E., Rahman, A. M., Fathi, M. M. 1999. Effect of Monosodium Glutamate and Sodium Benzoate on Histamine Content and Their Potential Interaction with Anthistaminic in Different CNS Areas of Albino Rat. *J EGSZ*. 29: 1-16.
- FDA. 2013. *Safety on Monosodium Glutamate (MSG) and Aspartame as Food Additives*. Tersedia dalam <http://www.fda.gov.ph/advisories/food/124033-fda-advisory-no-2013-058>.
- Fernstrom, J. D., Garattini S. 2000. International Symposium on Glutamate. *J Nutr*. Vol.130(4S): 891S–1079S.

- FSANZ. 2003. *Monosodium Glutamate. A Safety Assessment. Technical Report Series No. 20*. Canberra: Food Standards Australia New Zealand.
- Ganesan, K., Sukalingan, K., Balamurali, K., Alaudee, S. R. B., Ponnusamy, K., Ariffin, I. A., Gani, S. B. 2013. A Studies on Monosodium-L-Glutamate Toxicity in Animal Model-A Review. *IJPCBS*. Vol.3(4): 1257-1268.
- Geha, R., Beiser A., Ren, C. Patterson, R., Greenberger, P., Grammer, L., Ditto A., Harris, K., Saughnessy, M., Yarnold, P., Corrent, J., Saxon, A. 2000. Review of Allerged Reaction to Monosodium Glutamate and Outcome of A Multicenter Double- Blind Placebo- Controlled Study. *J Nutr*. Vol.130: 1058S-1062S.
- Griffin, J. E., and Ojeda, S. R. 2004. *Textbook of Endocrine Physiology 5thed*. Oxford: Oxford University Press.
- Halpern, B. 2002. The Use and Utility of Glutamates as Flavoring Agents in Food: Glutamate and Flavor of Foods. *J Nutr*. Vol.130: 910-914.
- Harshanur, I. W. 1995. *Anatomi Gigi 2*. Jakarta: EGC.
- Harmita, Radji, M. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi Ketiga*. Jakarta: EGC.
- Hermanussen, M., Garcia, A., Sunder, M., Voigt, M., Salazar, V., Tresguerres, J. A. F. 2006. Obesity, Voracity and Short Stature: The Impact of Glutamate on the Regulation of Appetite. *EUR J CLIN NUTR*. Vol.60: 25-31.
- Holt, R., Roberts, G., Scully, C. 2000. ABC of Oral Health: Oral Health and Disease. *BMJ*. Vol.320: 652-55.
- Krinke, G. J. 2000. *The Laboratory Rat*. London: Academic Press.
- Kurniawan, C., Waluyo, T. B., Sebayang, P. 2011. *Analisis Ukuran Partikel dengan Menggunakan Free Software ImageJ*. Tangerang: Pusat Penelitian Fisika-LIPI.
- Loliger, J. 2000. Function and Importance of Glutamate for Savory of Foods. *J Nutr*. Vol.130: 915S-920S.
- Maidawilis. 2010. *Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamat Terhadap Kadar Follicle Stimulating Hormon Dan Luteinizing Hormon Mencit (Mus Musculus) Betina Strain Jepang*. Tesis. Padang: Universitas Andalas.
- Markman, L. 2010. Teething: Facts dan Fiction. *AAP*. Vol.30(8): 59-64.

- Mokhtar, M. 2005. *Dasar-Dasar Ortodonti : Pertumbuhan dan Perkembangan Kraniodentofasial*. Medan: Bina Insani Pustaka.
- Nasution, M. I. 2008. *Morfologi Gigi Desidui dan Gigi Permanen*. Medan: USU Press.
- Nizamuddin. 2000. *Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamate Peroral pada Berat Badan dan Berat Testis*. Jakarta: Journal Kedokteran Yarsi.
- Noviantari, L. M. 2009. *Perbedaan Kekerasan Gigi Insisivus Tikus Wistar yang Mengonsumsi dan yang Tidak Mengonsumsi Susu Kedelai Lokal*. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Nuha, D. A. 2008. Analisa SEM (Scanning Electron Microscopy) dalam Pemantauan Proses Oksidasi Magnetite Menjadi Hematite. *Jurnal ITENAS*. ISSN 1693-3168.
- Nuryani, H., Jinap, S. 2010. Soy Sauce and Its Umami Taste: A link From the Past to Current Situation. *JFS*. Vol.5(3): 71-76.
- Pagella, Neto, Rojo, Lamghari, Mitsiadis. 2014. Microfluidics Co-Culture Systems for Studying Tooth Innervation. *Frontiers in Physiology*. Vol.5: 1-8.
- Park, C. H., Choi, S. H., Piao, Y., Kim, S., Lee, Y. J., Kim, H. S., Jeong, S., Rah, J. C., Seo, J. H., Lee, J. H., Chang, K., Jung, Y., Suh, Y. H. 2000. Glutamate and Aspartate Impair Memory Retention and Damage Hypothalamic Neurons in Adult Mice. *Toxicology Letters*. Vol.115: 117-125.
- Pintauli, S., Hamada, T. 2007. *Menuju Gigi dan Mulut Sehat: Pencegahan dan Pemeliharaannya*. Medan: USU Press.
- Prawirohardjono, W., Dwiprahasto, I., Indwiani, A., Hadiwandowo, S., Kristin, E., Muhammad, M., dan Michael, F. K. 2000. The Administration to Indonesians of Monosodium L-glutamat in Indonesian Foods: An Assessment of Adverse Reactions in a Randomized. *J Nutr*. Vol.130(4): 1074-1076.
- Rangkuti, Riska, H., Suwarso, E., Poppy A. Z. H. 2012. Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) pada Pembentukan Mikronukleus Sel Darah Merah Mencit. *JPP USU*. Vol.1 (1): 29-36.
- Rodriguez, M. S., Gonzales, M. E., Centurion, M. E. 2003. Determination of Monosodium Glutamate in Meat Products. *J. Argent. Chem. Soc*. Vol.91: 41-45.

- Sabri, E., Supriharti, D., Utama, G. E. 2006. Efek Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Perkembangan Embrio Mencit (*Mus musculus L.*) Strain DDW Selama Periode Praimplantasi Hingga Organogenesis. *Jurnal Biologi Sumatera*. Vol.1(1): 8-14.
- Sasaki, K. T., Delbem, A. C. B., Santos, O. A. M., Shimabucoro, C. E., Nakamune, A. C. M. S., Castro, J. C. B., Filho, R. M. O. 2003. Neuroendocrine Alteration Impair Enamel Mineralization, Tooth Eruption and Saliva in Rats. *Pesqui Odontol Bras*. Vol.17: 5-10.
- Seow, W. K., Young, W. G., Tsang, A., Daley, T. 2005. A Study of Primary Dental Enamel from Preterm and Full-Term Children Using Light and Scanning Electron Microscopy. *Pediatr Dent Scientific Article*. Vol.27(5) : 374-375
- Septadina, I. S. 2011. Perubahan Struktur Mikroskopis Ovarium Akibat Pemberian Monosodium Glutamat Pada Mencit (*Mus Musculus*) Betina Dewasa. *JKKI*. Vol.43(1): 3132-3137.
- Setiawati, S. N. 2008. Dampak Penggunaan Monosodium Glutamat Terhadap Kesehatan Lingkungan. *Jurnal Orbith*. Vol.4(3): 453-459.
- Sinuhaji, P., Marlianto, E. 2012. *Teknologi Film Tipis*. Medan: USU Press.
- Small, B. W., Murray, J. J. 1978. Enamel Opacities; Prevalence, Classifications, and Atiological Considerations. *J Dent*. Vol.9: 33-42.
- Sturdevant, C. M., Barton, R. E., Sockwell, C. L., Strickland, W. D. 2001. *The Art and Science of Operative Dentistry*. New Delhi: Mosby.
- Suckow, M. A., Weisbroth, S. H., Franklin, C. L. 2006. *The Laboratory Rat*. Burlington: Elsevier Academic Press.
- Sukawan, Y. S. 1995. *Msg Administration to Female Swiss Webster Strain Mice During Breast Feeding and the Effects on the Fecundity of Female New Born Mice*. Tesis. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Sukawan, U. 2008. Efek Toksik Monosodium Glutamate (MSG) pada Binatang Percobaan. *Jurnal UI*. Vol.3: 306 –314.
- Tranggono. 1989. *Bahan Tambahan Pangan (Food Additivies)*. Yogyakarta: PAU Pangan Gizi UGM.
- Trentini, Botticelli, A. 1990. Effect of Monosidium Glutamate on The Endrocine Glands, and Reproductive Function of The Rat. *Fert. Steril*. Vol.25: 478-483.

Wahono, N. A., Soenawan, H. 2009. *Delayed Eruption of Multiple Permanent Tooth in 12-year-old Boy*. Jakarta: Proceedings of the 15 Scientific Meeting and Refresher Course in Denstiry.

Wakidi, R. F. 2012. *Efek Protektif Vitamin C dan E Terhadap Mutu Sperma Mencit Jantan Dewasa yang di Pajan Dengan Monosodium Glutamat*. Tesis. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.



LAMPIRAN

A. Surat *Ethical Clearance* Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877
Jember 68121 Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA

Nomor : 674 /H25.1.11/KE/2015

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

PENGARUH PEMBERIAN MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG) TERHADAP STRUKTUR ENAMEL GIGI TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*)

Nama Peneliti Utama : Gladiola Nadisha. (Nim :121610101005)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 20 / 10 2015

dr. Rini Rianti, Sp.PK

B. Analisis Data

B.1 Uji normalitas dengan *Kolmogorov-Smirnov*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelompok 1	Kelompok 2	Kelompok 3
N		3	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7.03933	13.84900	18.14667
	Std. Deviation	.568226	.153727	2.323741
Most Extreme Differences	Absolute	.368	.289	.191
	Positive	.266	.289	.191
	Negative	-.368	-.210	-.182
Kolmogorov-Smirnov Z		.637	.501	.331
Asymp. Sig. (2-tailed)		.812	.963	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

B.2 Uji Homogenitas dengan *Levene Statistic*

Test of Homogeneity of Variances

Area Porositas (%)

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
3.347	2	6	.106

B.3 Uji *One Way ANOVA*

ANOVA

Area Porositas (%)

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	188.214	2	94.107	49.131	.000
Within Groups	11.493	6	1.915		
Total	199.707	8			

B.4 Uji *Post Hoc* LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Area Porositas (%)

LSD

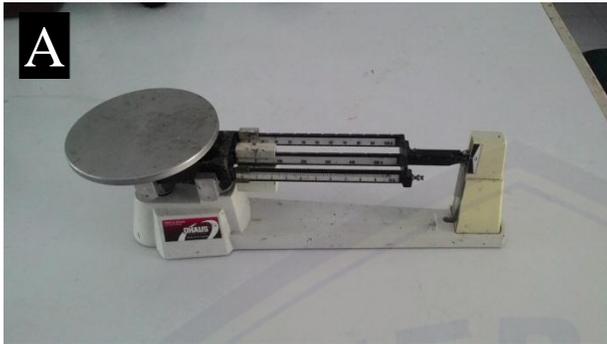
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kelompok 1	Kelompok 2	-6.809667*	1.130023	.001	-9.57473	-4.04460
	Kelompok 3	-11.107333*	1.130023	.000	-13.87240	-8.34227
Kelompok 2	Kelompok 1	6.809667*	1.130023	.001	4.04460	9.57473
	Kelompok 3	-4.297667*	1.130023	.009	-7.06273	-1.53260
Kelompok 3	Kelompok 1	11.107333*	1.130023	.000	8.34227	13.87240
	Kelompok 2	4.297667*	1.130023	.009	1.53260	7.06273

* The mean difference is significant at the .05 level.

C. Foto Alat dan Bahan Penelitian



Kandang Tikus



A

A : Timbangan untuk mengukur berat badan tikus



B

B : *Holder*

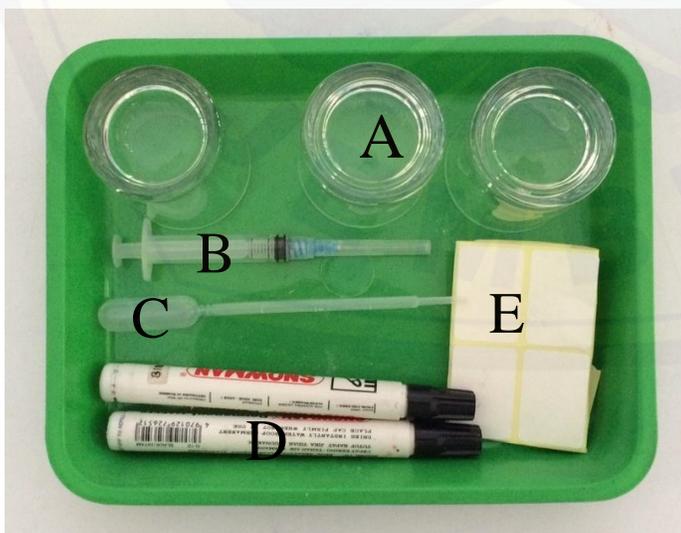


A

A : Sarung tangan

B

B : Masker



A

A : Gelas Kaca

B

B : *Syringe*

C

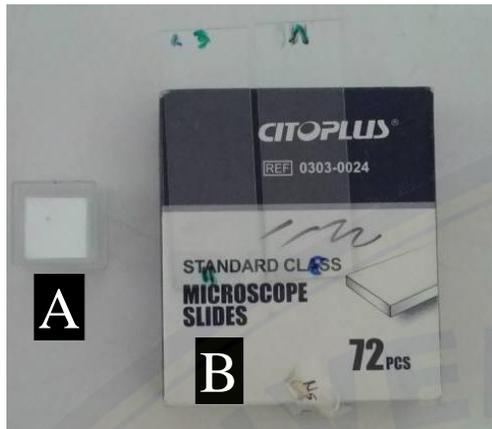
C : Pipet Tetes Kecil

D

D : Spidol Permanen

E

E : Label



A : Deck Glass
B : Object Glass
C : Mikroskop Cahaya



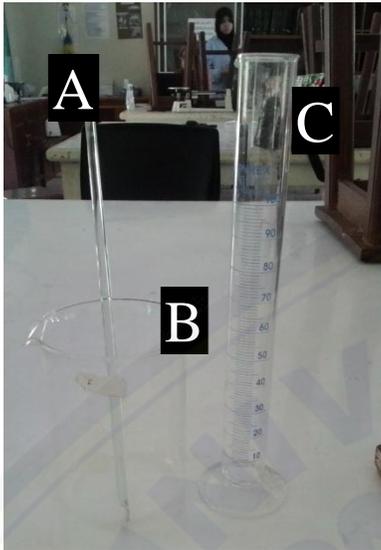
Tissue



Tabung sampel



A : Alas bedah
B : Gunting bedah
C : Pinset



A : Spatula kaca
B : Gelas kimia
C : Gelas Ukur



Timbangan (*Ohaus*, USA)



Alat *Scanning Electron Microscope* (SEM)



Alkohol 70%



MSG



Aquades

D. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian



Penimbangan berat badan tikus



Smear vagina pada tikus betina



Fase estrus pada tikus



Gestation day-0



Pemberian MSG peroral dengan sonde lambung



Dekapitasi tikus neonatal



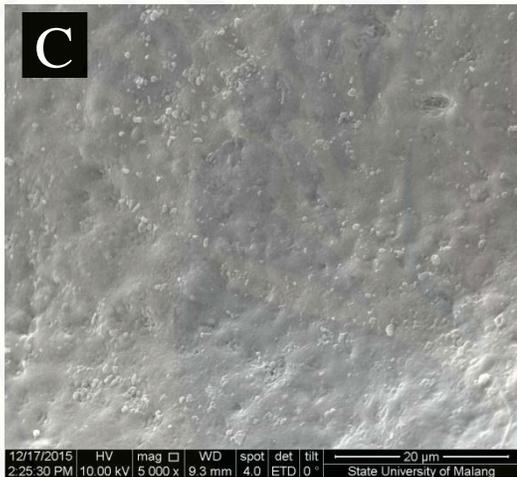
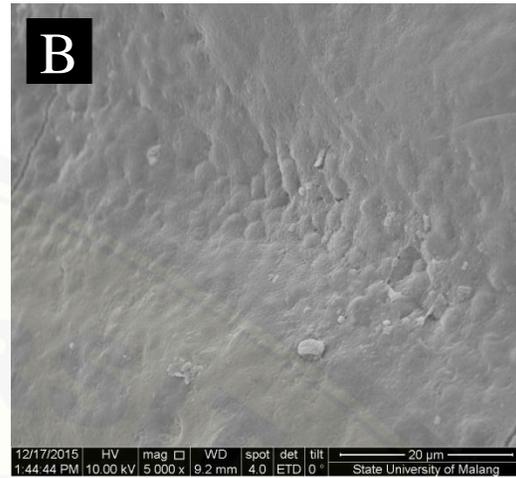
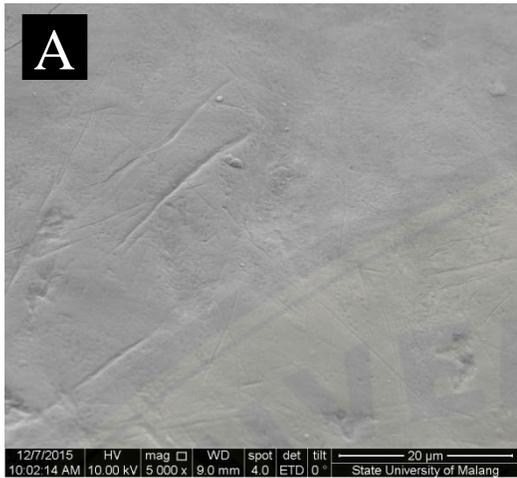
Pengambilan rahang bawah anak tikus



Penyimpanan rahang dalam formalin



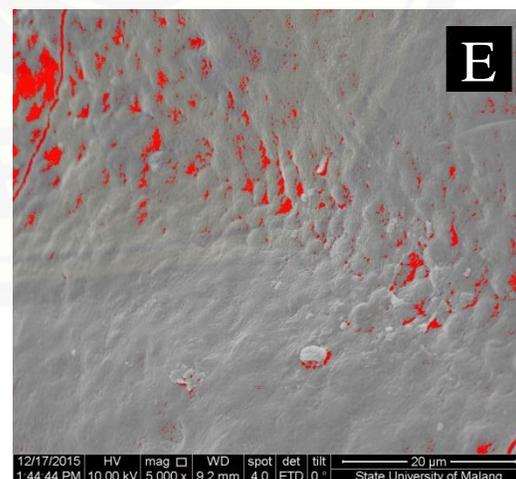
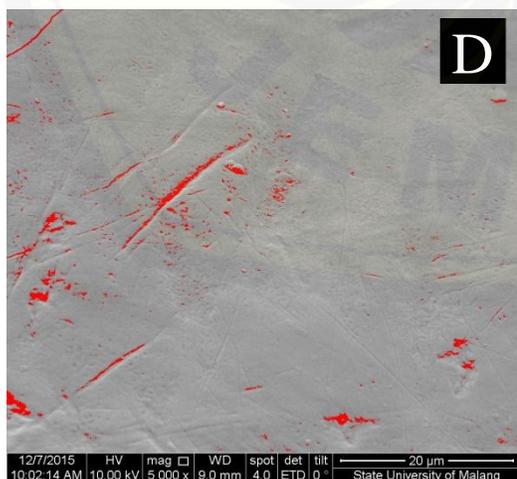
Induk tikus dan tikus neonatal yang baru lahir

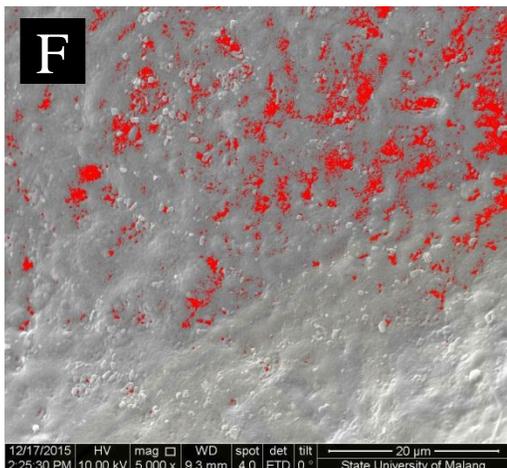


A : Hasil uji SEM sampel pada kelompok 1 (Kontrol)

B : Hasil uji SEM sampel pada kelompok 2 (MSG periode hamil)

C : Hasil uji SEM sampel pada kelompok 3 (MSG periode hamil dan menyusui)





D : Hasil pengolahan gambar dengan *ImageJ* pada sampel kelompok 1

E : Hasil pengolahan gambar dengan *ImageJ* pada sampel kelompok 2

F : Hasil pengolahan gambar dengan *ImageJ* pada sampel kelompok 3

File	Edit	Font	Results													
Area	Mean	Min	Max	X	Y	Circ.	Feret	%Area	FeretX	FeretY	FeretAngle	MinFeret	AR	Round	Solidity	
1	3245.140	120.353	0	255	0	0	0.003	1392.058	0.397	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
2	3245.140	129.892	0	255	0	0	0.003	1392.058	0.863	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
3	3245.140	129.187	0	255	0	0	0.003	1392.058	2.619	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
4	3245.140	130.087	0	255	0	0	0.003	1392.058	3.147	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
5	3245.140	158.241	0	255	0	0	0.003	1392.058	0.313	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
6	3245.140	182.474	0	255	0	0	0.003	1392.058	0.910	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
7	3245.140	147.389	0	255	0	0	0.003	1392.058	6.439	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
8	3245.140	140.069	0	255	0	0	0.003	1392.058	2.449	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
9	3245.140	142.366	0	255	0	0	0.003	1392.058	2.018	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
10	12987.443	140.718	0	255	0	0	0.003	2784.793	1.909	0	0.000	137.343	1887.000	1.085	0.921	1.000
11	12987.443	149.249	0	255	0	0	0.003	2784.793	2.810	0	0.000	137.343	1887.000	1.085	0.921	1.000
12	12987.443	154.031	0	255	0	0	0.003	2784.793	3.347	0	0.000	137.343	1887.000	1.085	0.921	1.000
13	12987.443	157.956	0	255	0	0	0.003	2784.793	2.872	0	0.000	137.343	1887.000	1.085	0.921	1.000
14	12987.443	138.366	0	255	0	0	0.003	2784.793	3.937	0	0.000	137.343	1887.000	1.085	0.921	1.000
15	12987.443	127.892	0	255	0	0	0.003	2784.793	2.069	0	0.000	137.343	1887.000	1.085	0.921	1.000
16	3245.140	133.546	0	255	0	0	0.003	1392.058	0.862	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
17	3245.140	143.211	0	255	0	0	0.003	1392.058	0.566	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
18	3245.140	138.998	0	255	0	0	0.003	1392.058	2.265	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
19	3245.140	137.117	0	255	0	0	0.003	1392.058	0.468	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
20	3245.140	145.392	0	255	0	0	0.003	1392.058	1.823	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
21	3245.140	168.874	0	255	0	0	0.003	1392.058	1.262	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
22	3245.140	134.716	0	255	0	0	0.003	1392.058	0.531	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000
23	3245.140	147.425	0	255	0	0	0.003	1392.058	1.221	0	0.000	137.358	943.000	1.086	0.921	1.000

Hasil pada menu *result* dalam *software ImageJ*

E. Data Penelitian**E.1 Tabel Data Penelitian**

Kelompok	Sampel	Bagian	Area porositas (%)	Jumlah (%)	Rata – rata jumlah area porositas kelompok (%)
1 (Kontrol)	1.1	Bukal	0,397	7,339	7,039
		Palatal	0,863		
		Mesial	2,619		
		Distal	3,147		
		Lereng cusp	0,313		
	1.2	Bukal	0,566	6,384	
		Palatal	2,265		
		Mesial	1,262		
		Distal	1,823		
		Lereng cusp	0,468		
	1.3	Bukal	2,893	7,395	
		Palatal	0,531		
		Mesial	1,221		
		Distal	1,338		
		Lereng cusp	1,412		
	1.4	Bukal	0,789	7,039	
Palatal		0,591			
Mesial		1,335			
Distal		1,873			
Lereng cusp		2,451			
2 (MSG selama periode hamil)	2.1	Bukal	0,910	13,725	
		Palatal	1,909		
		Mesial	2,449		
		Distal	2,018		
		Lereng cusp	6,439		
	2.2	Bukal	4,423	14,201	
		Palatal	3,991		
		Mesial	0,689		
		Distal	1,911		
		Lereng cusp	3,187		

		cusp			
	2.3	Bukal	2,806	13,801	13,909
		Palatal	0,725		
		Mesial	0,530		
		Distal	2,766		
		Lereng cusp	6,974		
	2.4	Bukal	2,766	13,909	
		Palatal	6,974		
		Mesial	2,806		
		Distal	0,725		
		Lereng cusp	0,638		
3 (MSG selama periode hamil dan menyusui)	3.1	Bukal	2,869	15,897	
		Palatal	2,810		
		Mesial	3,347		
		Distal	2,874		
		Lereng cusp	3,997		
	3.2	Bukal	2,775	20,538	
		Palatal	1,436		
		Mesial	8,099		
		Distal	2,061		
		Lereng cusp	6,167		
	3.3	Bukal	1,894	18,005	
		Palatal	2,019		
		Mesial	3,310		
		Distal	5,804		
		Lereng cusp	4,978		
	3.4	Bukal	2,061	18,147	
		Palatal	6,167		
		Mesial	2,775		
		Distal	1,436		
		Lereng cusp	5,708		
					18,147