

## PERBANDINGAN HASIL PENGUKURAN INTRUSI FLUOR PADA PERMUKAAN EMAIL DENGAN METODA FLUORESENSI DAN DENGAN METODA ANALISIS MIKRO EDX

Harun A. Gunawan, Priska Lestari, Astri SA.

Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Harun A. Gunawan, Priska Lestari, Astri SA. Perbandingan hasil pengukuran intrusi fluor pada permukaan email dengan metode fluoresensi dan dengan metoda analisis mikro EDX. Indonesian Journal of Dentistry 2005; 12(2):42-45.

### Abstract

Fluoride intrusion into enamel surface is one of the important factors of success in topical fluoridation. Objective: to compare EDX and fluorescence measurement methods of fluoride intrusion into enamel surface after anchovy application. Methods: 5 extracted impacted third molars were immersed in sterile saline solution for 24 hours. The buccal surfaces of the teeth were painted with nail varnish, and a window of 5 mm<sup>2</sup> at the center of each surface was left unpainted. Dried anchovies from the market were heated and powdered, and 5 g of this anchovy powder was diluted in 100ml deionized distilled water to prepare an anchovy solution. The teeth were immersed in the anchovy solution for 5 min twice a day with 3 hours intervals. Immersions were repeated for 9 days. After immersion, the teeth were cut transversally through the window. The occlusal portions of the specimens were prepared for microscopic slides at  $\pm 40 \mu\text{m}$  thickness. The cervical portions of the teeth were used as EDX specimens. Olympus BX41TF Fluorescence microscope was used to measure fluorescence bandwidth. LEO scanning electron microscope with micro analyzer was used to measure fluoride intrusion. Increment steps of 5  $\mu\text{m}$  from outer edge of the enamel to inner side were used as the points of EDX analysis. Paired t-test was used to analyze the intrusion results. Results: Fluoride intrusion depth measured using the fluorescence method was  $11.49 \pm 0.71 \mu\text{m}$ , while from the results of EDX analysis the average depth of fluoride intrusion was  $20.24 \pm 0.57 \mu\text{m}$ . Statistical analysis showed significant difference between the two methods. Conclusion: Intrusion measurement using EDX analysis gives higher fluoride intrusion than the fluorescence method.

Key words: fluoride intrusion, anchovy, EDX and fluorescence

## Pendahuluan

Fluoridasi merupakan salah satu metode dalam pencegahan karies yang dapat dilakukan secara sistemik maupun melalui aplikasi topikal<sup>1,2</sup>. Proses fluoridasi ditujukan untuk pembentukan senyawa fluoroapatit (FA) atau fluorohidroksiapatit (FHA) yang lebih tahan terhadap asam dibandingkan hidroksiapatit (HA).<sup>3</sup> Salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan pembentukan senyawa FA atau FHA pada aplikasi topikal fluor adalah tingkat intrusi ion fluor dipermukaan email. Semakin dalam intrusi yang diperoleh, semakin tinggi pembentukan FA/FHA. Dari penelitian Gunawan<sup>3</sup>, terdapat korelasi antara kedalaman intrusi fluor dengan tingkat kelarutan email. Dari penelitian Gunawan, dkk<sup>4</sup> intrusi fluor yang diukur dengan metode mikroskop fluoresensi menunjukkan kedalaman 3,34  $\mu\text{m}$  pada aplikasi NaF 200 ppm pada pH netral. Øgaard<sup>5</sup> dan Sjögren<sup>6</sup> menyatakan bahwa aplikasi senyawa fluor dengan konsentrasi rendah namun dilakukan berulang akan menghasilkan intrusi fluor yang baik pada permukaan email. Kato<sup>7</sup> dan Fejerskov<sup>8</sup> menyatakan bahwa aplikasi fluor dalam bentuk senyawa  $\text{CaF}_2$  menghasilkan tingkat retensi dan intrusi yang lebih baik.

Salah satu bahan alam yang mengandung fluor cukup tinggi adalah ikan teri, yaitu sebesar 15,7 – 38,3 ppm dan terutama tersimpan pada tulang dan kulitnya<sup>9</sup>. Pada ikan teri, fluor ditemukan dalam bentuk senyawa  $\text{CaF}_2$ .<sup>10</sup> Pada penelitian ini digunakan larutan ikan teri sebagai bahan aplikasi untuk menghasilkan intrusi fluor di permukaan email. Pengukuran intrusi fluor dipermukaan email dapat dilakukan dengan metoda pewarnaan fluor dari sediaan mikroskopik, namun metoda ini mulai ditinggalkan karena kurang akurat.<sup>4,11</sup> Pada penelitian ini diajukan dua metoda pengukuran, yaitu pemeriksaan dengan mikroskop fluoresensi dan analisis mikro EDX.<sup>4,12</sup>

Pengukuran intrusi fluor pada permukaan email dengan metoda fluoresensi dilakukan pada sediaan mikroskopik yang dibuat transversal pada jaringan email. Sinar eksitasi yang diberikan pada tepi sediaan akan memberikan perpendaran ion fluor, sehingga kedalaman intrusi dapat diukur. Metode EDX merupakan analisis mikro yang dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan SEM. Pada metode ini, analisis secara spot (titik) dilakukan secara inkremen dari tepi email ke arah batas email dentin (DEJ) dengan interval inkremen sebesar 5  $\mu\text{m}$ . Pemeriksaan dilakukan kearah dalam sampai elemen fluor tidak dapat terdeteksi

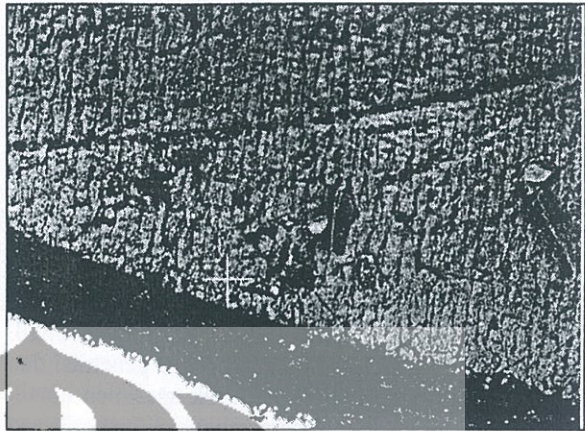
lagi. Batas dimana fluor tidak dapat dideteksi merupakan batas kedaiaman intrusi fluor.<sup>6,12</sup>

## Bahan dan Metode Penelitian

1. 5 buah gigi molar 3 impaksi yang baru diekstraksi, digunakan sebagai spesimen. Permukaan gigi dicat dengan cat kuku, pada permukaan bukal dibuat jendela ukuran 5  $\text{mm}^2$  yang tidak dicat.
2. Larutan teri dibuat dari teri jengki (*S. insularis*) yang dioven pada 80°C selama 20 menit, kemudian haluskan menjadi bubuk dengan ukuran partikel 100 mesh. Larutan teri dibuat dari 5 gram bubuk teri dalam 100 ml aquadem. Larutan ini dibuat segar setiap kali akan digunakan.
3. Aplikasi permukaan substrat fluor sebanyak 26 kali @ 5 menit dalam *shaker* dengan kecepatan 60 rpm.
4. Aplikasi dilakukan 3 kali sehari dengan interval waktu 3 jam.
5. Setelah aplikasi lengkap, gigi dipotong menjadi dua bagian secara transversal melewati jendela bukal. Potongan sisi servikal digunakan untuk uji EDX, sementara bagian oklusal dibuat menjadi preparat mikroskopik dengan ketebalan 40 mikron, dan digunakan untuk pemeriksaan fluoresensi.
6. Pemeriksaan fluoresensi dengan mikroskop Olympus BX41TF dilakukan pada 5 buah titik pada garis permukaan email sepanjang garis jendela bukaan, dengan cahaya eksitasi panjang gelombang 400 nm, dengan filter eksitasi IF 410, dan cermin *dichroic* DM 505.
7. Sebagai filter *barier* digunakan filter 515W, yang akan menghasilkan cahaya emisi dengan panjang gelombang 550 nm, dan berwarna warna hijau kekuningan.
8. Kedalaman intrusi dilihat sebagai pita fluoresens dipermukaan email. Lebar pita diukur dengan metode fotometri.
9. Pemeriksaan intrusi dengan mikro analisis EDX, dilakukan dengan spot analysis pada 5 titik secara inkremen dari garis permukaan email kearah DEJ dengan interval 5  $\mu\text{m}$ .
10. Untuk pemeriksaan EDX, tidak dilakukan coating spesimen.
11. Penentuan daerah pengukuran dilakukan melalui pengamatan menggunakan SEM. Setelah diperoleh daerah pemeriksaan, dilakukan analisis emisi *backscattered*, dengan i-Probe 900 nA. Tegangan filamen untuk secondary 10 kV, sedangkan untuk *backscattered* 15 kV.

12. Analisis EDX dilakukan dengan dasar elemen Oksigen, Carbon, Phosphor, Calcium dan Fluoride, dengan pilihan *normalized data*.
13. Data yang diperoleh adalah data kadar F<sup>-</sup> pada titik periksa. Digunakan asumsi bahwa semakin ke arah DEJ, kadar F<sup>-</sup> semakin menurun. Konversi data kadar F<sup>-</sup> ke arah besaran jarak(μm) dilakukan dengan menggunakan model persamaan pada uji statistik regresi linier.
14. Perbandingan hasil pemeriksaan dengan kedua metode diuji dengan *paired t-test*.

dapat terdeteksi adalah 1,5 % yaitu pada kelompok jarak 20 μm



### Hasil dan Pembahasan

#### a. Hasil pengukuran intrusi fluor metode fluoresensi (dalam μm)

no spesimen	1	2	3	4	5	$\bar{X}$
rerata	10,	12,	10,	11,	12,	11,
untuk 5 titik	28	40	76	39	62	49

#### b. Hasil pengukuran metode EDX dari titik inkremen (dalam % F thd standar)

Inkrement (5 μm)	5	10	15	20	25	30
Rerata kadar F (%)	10.32	7.01	3.24	2.23	*	*

\* : kadar fluor tidak terdeteksi



Gambar 1 : menunjukkan pita fluoresensi (□) sebagai intrusi fluor pada permukaan email (ground section 300X)

Dari hasil pengamatan dengan metode fluoresensi kedalaman rata-rata intrusi fluor yang dapat dideteksi adalah  $11.49 \pm 0.71 \mu\text{m}$  (Gambar 1) Dari hasil pengukuran dengan metode EDX diperoleh hasil bahwa kadar F minimal yang

Gambar 2 : Pengukuran pada kedalaman 5 μm (+) dan 20 μm (#) (SEM 1.2 K)

Analisis data dengan uji regresi linier diperoleh model :

$$y = 3,016 - 6,317x ; SE_x = 0,324$$

jika  $y = 1,5$  (kadar F minimal), maka :

$$6,317x = 3,016 - 1,5 \text{ sehingga } x = 0,24$$

jarak intrusi dengan kadar F minimal adalah :

$$20 + 0,24 = 20,24 \mu\text{m} \pm \sqrt{0,324} \\ = 20,24 \pm 0,57 \mu\text{m}$$

Analisis data tersebut menunjukkan bahwa jarak kedalaman intrusi yang dengan kadar F paling rendah adalah  $20,24 \pm 0,57 \mu\text{m}$

Pada pengujian dengan *paired t-test*, terlihat adanya perbedaan hasil antara kedua metode Hasil ini menunjukkan bahwa metoda EDX mempunyai sensitivitas dan ketelitian yang lebih baik dibandingkan dengan metoda fluoresensi.

Pada metode fluoresensi, jumlah ion fluor yang terdapat pada kedalaman email menentukan keberhasilan perpendaran sinar emisi. Pada pengukuran yang dilakukan terlihat bahwa setelah kedalaman 12 μm, jumlah ion fluor sangat sedikit sehingga emisi fluoresensi yang terjadi tidak dapat terdeteksi.

Apabila hasil tersebut dibandingkan dengan hasil metoda EDX terlihat bahwa pada kedalaman 12 μm, kadar ion F adalah 3,5 %, terhadap standar detektor. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa apabila jumlah kadar ion fluor kurang dari 3,5%, maka emisi perpendaran, fluor tidak dapat terdeteksi. oleh metode fluoresensi

Dalam hal persiapan spesimen, metode fluoresensi lebih sederhana, tanpa tabung vakum dan tanpa pewarnaan. Pada metode EDX, yang

digunakan bersama pemeriksaan SEM, spesimen harus ditempatkan pada tabung hampa.

Pengaturan pemeriksaan dengan mikroskop fluoresensi lebih mudah dibandingkan dengan pengaturan pada pemeriksaan EDX. Pada pemeriksaan fluoresensi, sinar yang diberikan pada spesimen adalah sinar jenis visibel biasa dengan panjang gelombang 400 nm<sup>4,12,15</sup>. Sinar ini tidak akan menimbulkan kerusakan pada spesimen meskipun penyinaran dilakukan pada waktu yang lama dan berulang. Sementara pada pemeriksaan EDX, digunakan sinar elektron yang dapat merusak spesimen. Sinar elektron yang ditujukan pada spesimen nonkonduktor, seperti email, harus diatur serendah mungkin daya penetrasi dan intensitasnya agar tidak merusak spesimen email. Keterbatasan tersebut menyebabkan pemeriksaan EDX pada email tidak dapat dilakukan pada jangka waktu yang lama atau berulang.

Pada pemeriksaan fluoresensi, spesimen tidak diwarnai dengan bahan fluoresensi, karena materi yang diamati adalah fluor, yang mempunyai sifat fluoresensi primer. Pada pemeriksaan EDX, spesimen tidak dilakukan *coating*, karena akan dilakukan analisa mikro dengan emisi *backscattered*.<sup>12-15</sup> Pengukuran kedalaman intrusi fluor pada metode fluoresensi dilakukan dengan teknik fotometri. Kedalaman intrusi diperoleh melalui pembagian lebar pita fluoresensi dengan faktor pembesaran mikroskop.

Analisis tersebut, meskipun dibantu dengan alat digital, namun penentuan lebar pita ditetapkan secara manual. Dengan demikian faktor distorsi pengukuran dapat terjadi. Pada pengukuran metode EDX, pengukuran kadar fluor dilakukan sepenuhnya secara digital, sehingga faktor kesalahan pengukuran dapat ditekan atau dihilangkan. Dari hasil yang diperoleh dapat dikatakan bahwa metode fluoresensi mempunyai keuntungan dalam hal preparasi pemeriksaan yang lebih mudah dan murah, serta tidak menimbulkan kerusakan spesimen

Kekurangan dari metoda ini adalah sensitivitas dan akurasinya lebih rendah dibandingkan dengan metode EDX. Pada metode EDX, keuntungan yang diperoleh adalah akurasi dan sensitivitas pengukuran yang sangat tinggi, dan diperoleh informasi mengenai kadar ion fluor pada berbagai titik kedalaman pengukuran. Kekurangan dari metode ini adalah preparasi pemeriksaan lebih sulit dan lebih mahal, serta terdapat kemungkinan kerusakan spesimen akibat penyinaran.

## Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan

1. Pemeriksaan fluoresensi dan analisa mikro EDX dapat digunakan untuk mengukur kedalaman intrusi fluor pada permukaan email setelah aplikasi larutan ikan teri.
2. Pengukuran dengan metode EDX memberikan hasil yang lebih akurat dibandingkan metoda fluoresensi.

## Daftar Pustaka

1. Newbrun E. *Cariology*, 4<sup>th</sup> ed., Quintessence Publ, Chicago, 1989.
2. Axelsson. *An Introduction to Risk Prediction and Preventive Dentistry*, Quintessence Publ, Chicago, 1999.
3. Gunawan HA. Pengaruh tingkat pH terhadap intrusi dan retensi fluor. *Prosidi 6<sup>th</sup> QIR FTUI*, 2003
4. Gunawan HA, Priska LH, Astri SA. Pengukuran Intrusi Fluor pada Permukaan Email setelah Aplikasi NaF. *QIR*; 2003.
5. Øgaard B. Calcium Fluoride Formation : Cariostatic Properties and Factors of Enhancing the Effect. *Caries Res*, 40.2001.
6. Sjögren K. How to Improve Oral Fluoride Retention, Munksgaard, Copenhagen, 2000.
7. Kato K, Nakagaki H, Takami Y, Tsuge S, Ando S, Robinson C.: A Method for Determining the Distribution of Fluoride, Calcium and Phosphorus in Human Dental Plaque and the Effect of Single *in vivo* Fluoride Rinse . *Arch Oral Biol* . 1997 ; 42 : 521 – 5.
8. Elwood R, Fejerskov O. Clinical Use of Fluorides, dalam Fejerskov O, Kidd EAM(ed). *Dental Caries, Diseases and it's Clinical management*. Munksgaard: Blakwell Publ Co. 2003: 189-219.
9. Maharani DA, Irma, Gunawan HA. Fluoride measurement of Teri Fish using ISE Methods *APDSA Annual meeting, Adelaide, 2001*.
10. Gunawan HA, Wulandari A, Cahyanti WS, Mutiara HD. Analisa senyawa fluor ikan teri dengan metoda XRD. *KPPIKG XII, 2003*.
11. Olmesz S, Yuksel B, Celik H. Scanning Electron Microscope Study of Human Enamel Surfaces treated with Topical Fluoride Agents. *J IAS*. 1993; 6.
12. Goldstein JI et al. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. 2 nd ed. Plenum Press, New York, 1992.
13. Tumba KJ. Slow Releasing Fluoride for Caries High Risk Individuals, *Caries Res*, 2001: 35 (suppl 1): 10-13.
14. Loretto MH. *Electron Beam Analysis of Materials*, Chapman and Hall Ltd, London, 1984.
15. Goodhew PJ, Humpreys J, Beanland R. *Electron Microscopy and Analysis*, 3 rd ed. Taylor & Francis London, 2001.