



**STUDI DIAMETER TUBULUS DENTIN SETELAH PEMAPARAN  
FLUORIDE 1500 ppm (GAMBARAN ATOMIC FORCE  
MICROSCOPY)**

**THE STUDY OF TUBULAR DIAMETER OF DENTINE AFTER  
USING FLOURIDE 1500 PPM (ATOMIC FORCE MICROSCOPY)**

Abdillah Imron Nasution, Mursal, Iqbal Saputra

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

**ABSTRAK**

Fluoride sering terdapat di dalam pasta gigi dengan kadar 1500 ppm. Jika fluoride terpapar dengan dentin, fluoride dapat mengubah struktur dan ukuran kristal Hidroksiapatit yang merupakan pembentuk dentin. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh pemaparan fluoride 1500 ppm terhadap diameter tubulus dentin. Penelitian ini menggunakan *Atomic Force Microscopy* dan ukuran diameter tubulus dentin dianalisis dengan *software gwyddion v.2.30*. Enam gigi premolar digunakan sebagai spesimen dan dipotong pada area mahkota dekat CEJ kemudian dihaluskan. Spesimen dikelompokkan ke dalam enam kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok yang dipaparkan larutan fluoride 1500 ppm dengan durasi 1 menit, 3 menit, 5 menit, 8 menit dan 10 menit. Pemaparan dengan fluoride dilakukan selama 7 hari. Sebanyak 5 tubulus dentin dari masing-masing spesimen dihitung ukuran diameternya. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa diameter tubulus dentin pada kelompok kontrol memiliki ukuran rerata yang paling besar yaitu 4,41  $\mu\text{m}$ . Sedangkan ukuran rerata diameter tubulus dentin pada kelompok perlakuan yaitu 2,63-3,53  $\mu\text{m}$ . Hasil uji analisis statistik *one-way ANOVA* dan uji *Tukey* menunjukkan semua kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol ( $p < 0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa pemaparan larutan fluoride 1500 ppm dapat mengurangi diameter tubulus dentin secara signifikan walaupun belum mampu menutupi tubulus dentin yang terbuka dengan sempurna.

**Kata kunci:** fluoride, diameter tubulus dentin, *Atomic Force Microscopy*.

**ABSTRACT**

A concentration of 1500 ppm fluoride is often contained in toothpaste . If fluoride exposed to dentin, it can change the structure and size of hydroxyapatite crystals which is dentinal forming structure. This study aimed to analyze the effect of 1500 ppm fluoride exposure on dentinal tubules size. This study used Atomic Force Microscopy and the diameter size of dentinal tubules was analyzed by software gwyddion v.2.30. The total of six premolars were prepared as specimens and was cut in on the crown area near CEJ and afterwards was polished. Specimens were divided into six groups as follows; control group and experimental group which was exposed to 1500 ppm fluoride solution as long as 1 minute, 3 minutes, 5 minutes, 8 minutes and 10 minutes. Fluoride exposure was conducted for 7 days. The diameter size of five dentinal tubules of each specimen was counted. The result of this study showed that diameter size of dentinal tubules in control group had the highest mean value of 4.41  $\mu\text{m}$ . While the mean size of diameter of dentinal tubules in experimental group was 2.63  $\mu\text{m}$  to 3.53  $\mu\text{m}$ . The statistical result of one-way ANOVA and Tukey test showed that all the control groups had significant difference with the control group ( $p < 0.05$ ). It was concluded that exposure to 1500 ppm fluoride solution could significantly reduce the diameter size of dentinal tubules, although it was incapable to throughly cover the exposed dentin.

**Keyword:** fluoride, dentinal tubules diameter, Atomic Force Microscopy

## PENDAHULUAN

Email, dentin, dan sementum merupakan jaringan keras gigi yang tersusun dari struktur mineral berupa kristal hidroksiapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). Mineral hidroksiapatit dapat mengalami demineralisasi dan larut jika terpapar dengan asam yang menyebabkan kerusakan jaringan gigi seperti karies atau erosi.<sup>1</sup> Selain itu, struktur mineral ini dapat tersubstitusi oleh ion fluoride membentuk fluoroapatit ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}$ ) yang membuat jaringan keras gigi seperti email dan dentin lebih tahan terhadap asam, sehingga fluoride sering digunakan untuk mencegah karies gigi.<sup>2,3,4</sup>

Selain untuk mencegah karies, fluoride juga dapat digunakan sebagai salah satu bahan dalam perawatan hipersensitivitas dentin.<sup>5,6,7</sup>

Hipersensitivitas dentin berkaitan erat dengan peningkatan permeabilitas tubulus dentin yang terbuka pada area permukaan gigi.<sup>8</sup> Tubulus dentin dapat terbuka jika lapisan pelindung dentin berupa email dan sementum hilang karena karies, erosi, abrasi ataupun atrisi. Permeabilitas tubulus dentin yang tinggi dapat menyebabkan cairan di dalam tubulus dentin bergerak karena respon dari suhu, sentuhan, ataupun perubahan tekanan sehingga mengganggu reseptor saraf di dalamnya dan menimbulkan sensasi nyeri.<sup>9</sup> Fluoride yang digunakan pada perawatan hipersensitivitas gigi dapat berpenetrasi ke dalam tubulus dentin dan mengubah ukuran diameter tubulus dentin. Senyawa fluoride tersebut akan mengunci tubulus dentin yang terpapar dengan lingkungan rongga mulut dan menahan stimulus yang memicu hipersensitivitas dentin.<sup>10,11,12,13</sup>

Fluoride merupakan suatu ion yang berasal dari unsur fluor. Unsur fluor tidak terdapat dalam bentuk zat tunggal, tetapi bergabung dengan unsur lain membentuk suatu senyawa fluor. Fluoride secara alami merupakan mineral yang terdapat di dalam batuan dan air dalam jumlah yang kecil.<sup>14</sup> Fluoride juga ditemukan dalam tubuh manusia dan biasanya bergabung dengan jaringan yang terkalsifikasi, misalnya pada tulang dan gigi. Dalam bidang kedokteran gigi, fluoride sering digunakan sebagai salah satu bahan campuran dalam produk pasta gigi dan obat kumur.<sup>15,16</sup>

Kandungan fluoride dalam produk pasta gigi untuk orang dewasa memiliki variasi, di Amerika Serikat biasanya berkisar antara

1000-1100 ppm, dan beberapa produk di Eropa kandungannya mencapai 1500 ppm.<sup>15</sup> Kandungan fluoride di Indonesia dan beberapa negara kawasan Asia Tenggara mencapai 1500 ppm.<sup>17</sup>

Sediaan fluoride 1500 ppm bisa didapatkan dari senyawa natrium fluoride (NaF) yang merupakan sediaan fluoride yang sering digunakan pada beberapa produk pasta gigi, sedangkan senyawa lain yang diizinkan oleh *Food and Drug Association* (FDA) sebagai sumber fluoride dalam produk pasta gigi atau obat kumur adalah timah fluoride (SnF), atau sodium monofluorofosfat ( $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ ).<sup>3,18</sup>

## BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Adapun alat dan bahan yang digunakan adalah *Carborundum disc*, Bur diamond *fissure* dan bur silindris, Mikromotor, Sonde *half moon*, pemoles *aluminium oxide*, Gelas ukur, timbangan analitik, *Stopwatch*, Wadah untuk meletakkan specimen, inkubator (Heraeus), *Atomic Force Microscopy* (Nanosurf), *Software Gwyddion version 2.30*, Gigi, Asam sitrat 6%, aquades.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post test only control group*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Dasar Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Syiah Kuala, dan Laboratorium Fisika Material Fakultas MIPA Universitas Syiah Kuala. Waktu penelitian dilaksanakan pada Januari 2013.

Dengan menggunakan alat mikromotor dan *carborundum disc*, gigi premolar yang telah dipersiapkan dipotong lurus dari arah mesial ke arah distal pada mahkota gigi di dekat garis *Cemento-enamel Junction* (CEJ).

Setelah permukaan mahkota yang dipotong tersebut rata, specimen gigi tersebut dihaluskan kembali dengan menggunakan pemoles *aluminium oxide* selama 20-30 detik.<sup>6</sup> Setelah penghalusan, specimen dibilas dengan aquades. Setelah dipreparasi, specimen direndam dengan larutan asam sitrat ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ ) 6% selama 1 menit.

Dentin gigi yang telah dipersiapkan dikelompokkan ke dalam 6 kelompok. Kelompok pertama direndam dalam aquades tanpa dipaparkan dengan natrium fluoride (kelompok kontrol). Sedangkan sisanya

direndam dalam larutan NaF masing-masing selama 1 menit, 3 menit, 5 menit, 8 menit dan 10 menit. Larutan natrium fluoride yang telah dipersiapkan di tempatkan dalam vial plastik sebanyak 10 ml untuk setiap spesimen dan diganti setiap kali perendaman. Setelah dipaparkan dengan larutan Fluoride, setiap spesimen ditempatkan dalam wadah berisi aquades dan disimpan dalam inkubator pada suhu  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Perlakuan terhadap spesimen tersebut diulangi selama 7 hari.

Area yang diperiksa adalah bagian permukaan dentin dengan luas permukaan yang discan dengan AFM yaitu  $20 \times 20 \mu\text{m}$  sehingga akan memberikan gambaran yang lebih jelas terhadap keadaan tubulus dentin, dan dapat dilakukan pengamatan terhadap diameternya.

Untuk mendapatkan panjang setiap garis diameter yang akurat, pembuatan garis dan perhitungan panjang garisnya menggunakan tool *measure distance and direction between points* pada *software* analisis gambar AFM *Gwyddion version 2.30*.

## HASIL

Hasil pengukuran diameter tubulus dentin pada spesimen kontrol yang tidak dipaparkan larutan natrium fluoride 1500 ppm memiliki nilai rerata yang paling tinggi yaitu sebesar  $4,41 \mu\text{m}$ . Nilai ini berbeda dengan rerata kelompok perlakuan yaitu antara  $2,63 \mu\text{m}$  -  $3,53 \mu\text{m}$  seperti yang terdapat pada Tabel 1. Nilai rerata diameter tubulus dentin cenderung mengalami penurunan sejalan dengan kenaikan durasi perendaman.

Tabel 1 Ukuran rerata diameter tubulus dentin Diameter tubulus dentin ( $\pm$  SD)

| Control            | 1 menit            | 3 menit            | 5 menit            | 8 menit            | 10 menit           |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 4,41 ( $\pm$ 0,22) | 3,53 ( $\pm$ 0,36) | 3,26 ( $\pm$ 0,38) | 2,93 ( $\pm$ 0,67) | 2,69 ( $\pm$ 0,52) | 2,63 ( $\pm$ 0,35) |

Hasil uji normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* menunjukkan data normal ( $P > 0,05$ ) pada semua kelompok spesimen. Uji homogenitas data juga menunjukkan bahwa data homogen ( $P > 0,05$ ). Nilai  $P > 0,05$  telah memenuhi syarat untuk dilakukan analisis ANOVA *one way* yang bertujuan untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan antar kelompok spesimen. Hasil analisis ANOVA menunjukkan paling tidak terdapat dua

kelompok yang berbeda secara signifikan ( $P < 0,05$ ). Dengan demikian paparan larutan NaF 1500 ppm dapat mempengaruhi ukuran diameter tubulus dentin.

Analisis *post hoc* dengan menggunakan uji *Tukey* dilakukan untuk melihat kelompok mana yang menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hasil uji *Tukey* ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Perbandingan nilai kemaknaan antar kelompok perlakuan

| Kelompok pembanding |          | P      |
|---------------------|----------|--------|
| kontrol             | 1 menit  | 0,041* |
|                     | 3 menit  | 0,005* |
|                     | 5 menit  | 0,000* |
|                     | 8 menit  | 0,000* |
|                     | 10 menit | 0,000* |
| 1 menit             | 3 menit  | 0,933  |
|                     | 5 menit  | 0,315  |
|                     | 8 menit  | 0,062  |
|                     | 10 menit | 0,038* |
| 3 menit             | 5 menit  | 0,845  |
|                     | 8 menit  | 0,343  |
|                     | 10 menit | 0,242  |
| 5 menit             | 8 menit  | 0,948  |
|                     | 10 menit | 0,876  |
| 8 menit             | 10 menit | 1,000  |

Dari hasil uji analisis ANOVA dan *Tukey* menunjukkan bahwa paparan larutan natrium fluoride 1500 ppm pada beberapa durasi waktu dapat mengurangi ukuran diameter tubulus dentin secara signifikan sehingga hipotesis dapat diterima. Berdasarkan uji tingkat lanjut antar kelompok spesimen menunjukkan bahwa antar kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan yang bermakna adalah kelompok spesimen yang diberi perlakuan 1 menit dengan 10 menit.

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian didapatkan bahwa ukuran diameter tubulus dentin terbesar terdapat pada spesimen kontrol yaitu  $4,41 \mu\text{m}$ . Beberapa penelitian sebelumnya diketahui bahwa ukuran diameter tubulus dentin normal di area dekat dinding pulpa adalah  $3-4 \mu\text{m}$ . Peningkatan ukuran diameter tubulus dentin ini disebabkan oleh prosedur preparasi seperti posisi pemotongan tubulus dentin yang diamati. Penggunaan asam untuk

menghilangkan *smear layer* juga ikut mempengaruhi peningkatan diameter tubulus dentin. Hal ini disebabkan penetrasi asam ke dalam tubulus dentin yang melarutkan mineral pada dinding tubulus dentin dan memperlebar diameter tubulus dentin.<sup>20,21</sup>

Penurunan diameter tubulus dentin menunjukkan adanya perubahan pada tubulus dentin akibat pengaruh dari fluoride. Ion fluoride dalam larutan dapat berinteraksi dengan mineral dentin dalam beberapa cara yang berbeda. Interaksi antara ion fluoride dengan kalsium dalam tubulus dentin dapat membentuk kalsium fluoride ( $\text{CaF}_2$ ) yang dapat menurunkan permeabilitas tubulus dentin. Pembentukan kalsium fluoride ini menjadi faktor penurunan diameter tubulus dentin dan penutupan tubulus dentin. Pembentukan kalsium fluoride juga dapat memicu proses remineralisasi pada hidroksiapatite. Menurut Aoba, pembentukan kalsium fluoride dimungkinkan ketika konsentrasi ion fluoride lebih dari 100 ppm dan jumlah kalsium fluoride yang terbentuk akan meningkat sejalan dengan peningkatan aktifitas ion fluoride.<sup>4</sup>

Fluoride merupakan ion yang sangat reaktif. Skala Pauling untuk fluoride adalah 3,98. Hal ini membuat fluoride memiliki sifat elektronegativitas yang tinggi sehingga akan menimbulkan gaya tarik terhadap ion kalsium yang berdekatan. Selain dapat membentuk kalsium fluoride, fluoride juga secara fisikokimia dapat mengendap ke dalam struktur kristal dentin. Fluoride dapat mengganti gugus hidroksida ( $\text{OH}^-$ ) pada kristal hidroksiapatit yang terdapat pada dentin. Penggantian gugus hidroksida dengan fluoride akan membentuk fluorohidroksiapatit dan fluoroapatit serta mampu memicu proses remineralisasi.<sup>4,47</sup> Miglani juga berpendapat bahwa pemaparan larutan fluoride terhadap dentin dapat memicu pembentukan kristal fluoroapatit yang jauh lebih stabil dibandingkan kalsium fluoride di dalam tubulus dentin.<sup>48</sup>

Berdasarkan hasil penelitian, walaupun terjadi penurunan ukuran diameter yang signifikan pada spesimen perlakuan dibandingkan spesimen kontrol, penggunaan natrium fluoride 1500 ppm sebagai bahan untuk pengobatan hipersensitivitas dentin tidak memberikan hasil yang optimal. Hal ini dikarenakan masih adanya tubulus dentin yang terbuka meskipun pada durasi 10 menit.

Keadaan ini bisa saja disebabkan oleh waktu pemaparan yang masih kurang lama. Pemakaian natrium fluoride untuk mengurangi hipersensitivitas dentin juga tidak memberikan hasil yang signifikan, seperti penelitian yang dilakukan oleh Plagmann yang masih menemukan respon hipersensitivitas setelah pemakaian pasta gigi yang mengandung fluoride 1400 ppm setelah 8 minggu. Respon hipersensitivitas dentin yang masih timbul ini mengindikasikan masih adanya tubulus dentin yang terbuka.<sup>51</sup>

## KESIMPULAN

Pemaparan fluoride 1500 ppm pada durasi waktu 1 menit, 3 menit, 5 menit, 8 menit, dan 10 menit dapat mengurangi diameter tubulus dentin. Semakin lama durasi pemaparan fluoride 1500 ppm akan semakin mengurangi ukuran diameter tubulus dentin

## DAFTAR PUSTAKA

1. Roveri N, Battistella E, Bianchi CL, Foltran I, Foresti E, Lafisco M dkk. Surface enamel remineralization: biomimetic apatite nanocrystals and Fluoride ions different Effects. *Journal of Nanomaterials* Volume 2009; 10:1-6.
2. Bizang M, Yong-hee P Chun, Winterfeld MT, Alterburger MJ, Wolfgang HM, Zimmer S. Effect of a 5000 ppm Fluoride toothpaste and a 250 ppm Fluoride mouth rinse on the demineralisation of dentin surfaces. *BMC Research Notes* 2009; 147(2):1-6
3. Rakita PE. Dentifrice Fluoride. *Journal of Chemical Education*. <http://www.jce.divched.org>, 18 September 2012.
4. Aoba T. The effect of fluoride on apatite structure and growth. *Crit Rev Oral Biol Med* 1997; 8(2):136-153.
5. Agarwal SK, Tandon R, Praveen G, Gupta S. Dentine hypersensitivity: a new vision on old dental science. *Indian Journal of Dental Science* 2010; 2(2):20-30.
6. Arrais AG, Micheloni CD, Giannini M, Chan D. Occluding Effect of Dentifrices on Dentinal Tubules. *Journal of Dentistry* 2003; 31:577-8.
7. Ritter AV, Dias W, Miguez P, Caplan DJ, Swift EJ. Treating cervical dentin hypersensitivity with Fluoride varnish. A

- randomized clinical study. *JADA* 2006; 137:1013-1020
8. Bartold PM. Dentinal Hypersensitivity: a Review. *Australian Dental Journal* 2006; 51(3):212-218.
9. Pinto SC, Silveira CMM, Pochapski MT, Pilatti GL, Santos FA. Effect of desensitizing toothpastes on dentin. *Braz Oral Res* 2012; 26(5):410-417.
10. Arrais AG, Chan D, Giannini M. Effect of Desensitizing Agent on Dentinal Tubule Occlusion. *J Appl Oral Sci* 2004; 12(2):144-8.
11. Rosing CK, Fiorini T, Liberman DN, Cavagni J. Dentin Hypersensitivity: Analisis of Self-Care Product. *Braz Oral Res* 2009; 23(1):56-63.
12. Akca AE, Gokce S, Kurkcu M, Ozdemir A. Clinical Assessment of Bond and Fluoride in Dentin Hypersensitivity. *Gulhane Military Medical Academy Center of Dental Sciences Department of Periodontology* 2006; 30(4):92-100.
13. Vierra APGF, Hancock R, Dumitriu M, Limeback H, Grynpas MD. Fluoride's effect on human dentin ultrasound velocity (elastic modulus) and tubule size. *Eur J Oral Sci* 2006; 114:83-88.
14. Mc Ginley JS, Stoufflet MN. Fluoridation fact. *American Dental Association* 2005:10.
15. U.S Departemen of Health and Human Servis. Recommendation for Using Fluoride to Prevent and Control Dental Caries in the United State. 2001; 50(14):13-21
16. Jones S, Burt BA, Petersen PE, Lennon MA. The Effective Use of Fluorides in Public Health. *Bulletin of the World Health Organization* 2005; 83(9):670-676.
17. Kadir RA, Latif LA. Fluoride Level in Dentistry. *Annals of Dent Univ Malaya* 1998; 5:2-5
18. Badan Pengawasan Obat dan Makanan Indonesia. Manfaat dan Resiko Fluoride dalam Pasta Gigi. 2009; 10(2):10.
19. Tseveenjaw B, Suominen AL, Housen A, Vehkalati MM. The role of sugar, xylitol, toothbrushing frequency, and use of fluoride toothpaste in maintenance fo adult's health: finding from the Finnish National Health 2000 survey. *Eur J OralSci* 2011; 119: 40-47
20. Riset Kesehatan Dasar 2007. Departemen Kesehatan RI, 2008.p.137.
21. Bray KK. Toothbrushing behavior change. *American Dental Hygienist Association* 2010.p.2.
22. Mjor IA. Ole Feejerskov. *Human Oral Embriology and Histology*. Alih bahasa: Siregar F. Jakarta: Widya Medika, 1991.p.81-92.
23. Syngcuk K, Hayeraas J, Haug S. Structure and Function of the Dentin-Pulp Complex. [Http://www.4endo.net/9b63eccoe8](http://www.4endo.net/9b63eccoe8), 21 Oktober 2012.
24. Balogh MB, Fehrenbach MJ. *Dental Embriology, Histology, and Anatomy*. 2<sup>nd</sup> ed. Missouri: Evolve Elsevier, 2006.p.192-201.
25. Phashley, David H. Richard E.Walton. Harold.C.Slavkin. *Histology and Physiologi of the Dental Pulp*. In Endodentic. 5<sup>t h</sup>. Chapter 2. USA: Bc DeckerInc, 2008.p.48-53.
26. Brand RW, Isselhard DE. Enamel, dentin, and pulp. In: Anatomy of Orofacial Structure. 7<sup>th</sup> ed. Missouri: Mosby Elsevier, 2003.p. 271-273.
27. Nanci A. Dentin-pulp complex. In: *Ten Cate's Oral Histology Development, Structure and Function*. 7<sup>t h</sup>ed. Missouri: Mosby Elsevier, 2008.p.191-214.
- Avery JK, Chiego DJ Jr. *Essential of Oral Histology and Embriology. A Clinical Approach*. 3<sup>rd</sup>ed. Missouri: Mosby Elsevier, 2006.p.108-113.
29. Mjor IA. Dentine Permeability: The Basis of Understanding Pulp Reaction and Adhesive Technology. *Braz Dent J* 2009; 20(1):3-16.
30. Ghazali FB. Permeability of Dentin. *Malaysian Journal of Oral Science* 2003; 10(1):27-36.
31. Leventouri T, Antonakos A, Kyriacou A, Venturelli R, Liarokapis E, Perdikatsis V. Crystal Structure Studies of Human Dental Apatite as Function Age. *International Jurnal of Biomaterial* 2009;1-6. Leroy N, Bress E. Structure and Substitution in Fluoroapatite. *European Celland Material* 2001; 2:36-48.
32. Zurlinden K, Laup M, Jennisen HP. Chemical Functionalzation of a Hydroxyapatite Base Bone Replacement Material for the Immobilization of

- Protein. *Werkstofftech* 2005; 36(12):820-828.
33. Jena P. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite. *Rourkela: Institute of Technology*, 2007.p.11. Thesis.
34. Tredwin CJ. Sol-gel Derived Hydroxyapatite, Fluorhydroxyapatite and Fluoroapatite Coating for Titanium Implant. London: *University College London*, 2009.P.27-29. Thesis\
35. Ki-Young K, Eddi W, Nofal M, Seung-wuk L. Microscopy Study of Hydroxyapatite Dissolution as Affected by Fluoride Ion. *Langmuir Article*, 2011; <http://www.pubs.acs.org/Langmuir>, 22 September 2012
35. Porto ICCM, Andrade AKM, Montes MAJR. Diagnosis and Treatment of Dentinal Hypersensitivity. *Journal of Oral Science* 2009; 5(3):323-332.
36. Assis JS, Rodrigues LK, Fonteles CR, Colares RCR, Souza AMB, Santiago SL. Dentin Hypersensitivity After Treatment With Desensitizing Agents: A Randomized, Double-Blind, Split-Mouth Clinical Trial. *Braz Dent J* 2011; 22(2):157-161.
37. Pinto SCS, Pochapski MT, Wambier DS, Pilatti GL, Santos FA. In Vitro and in Vivo Analyse of The Effect of Desensitizing Agents on Dentin Permeability an Dentinal Tubules Occlusion. *Journal of Oral Science* 2010; 32(1):23-32.
38. Petrou I, Heu R, Stranick , Lavender S, Zaidel R, Cummins D. A Breakthrough Therapy for Dentin Hipersensitivity: How Dental Product Containing 8% Arginine and Calcium Carbonate Work to Deliver Effective Relief of Sensitive Teeth. *J Clin Dent* 2009; 20:23-31.
39. Lee SY, Kwon HK, Kim BI. Effect of Dentinal Tubules Occlusion by Dentifrices Containing Nano Carbonat Apatit. *Journal of Oral Rehabilitation* 2008; 35:847-853.
42. Kubinek R, Zapletalova Z, Vujtek M, Novotny R, Kolarova H, Chmelickova H. Examination of Dentin Surface Using AFM and SEM. *Modern Research and Education Topics in Microscopy* 2007; 593-598.
43. Cautinho ET, Moraes JR, Paciornic S. Evaluation of Microstructure Parameter of Human Dentin by Digital Image Analysis. *Material Reseach* 2007; 10(2):153-159.
44. Blanchard CR, AtomicForce Microscopy. *The Chemical Educator* 1996; 1(5):1-8.
45. Vilalta-clemente A, Gloystein K. Principles of Atomic Force (AFM). Greece: *Aristotle University*, 2008.p.1-10.
46. Fantner G. Atomic Force Microscopy. Advanced bioengineering methode laboratory.
47. Nasution, AI. Gambaran nanostruktur kristal hidroksi apatit pada email fluorisis. Jakarta: *Universitas Indonesia*, 2008. Thesis. H:39-40.
48. Miglani S, Aggarwal V, Ahuja B. Dentin hypersensitivity: recent trend in management. *J Conserv Dent* 2010; 13(4): 218-224.
49. Vierra A, Hancock R, Limback H, Schwartz M, Grynpas M. How does fluoride concentration in the tooth affect apatite crystal size. *J Dent Res* 2003; 82(11):909-913.
50. Markovic M, Takagi S, Chow LC, Frukhtbeyn S. Calsium Fluoride precipitation and deposition from 12 mmol/l fluoride solution with different calsium addition rate. *J Res Natl* 2009; 114(5): 293-301.
51. Plagmann HC, konig J, Bernimoulin JP, Rudhart AC, Deschner J. A clinical study comparing two high-fluoride dentifrices for the treatment of dentinal hipersensitivity. *Quintessence Internasional* 1997; 28(6):403-408.