jurnal material kedokteran gigi

Pengaruh Susu Sapi dan Protein Whey terhadap Kekerasan Email Gigi setelah Demineralisasi

Liesma Dzulfia¹, Mia Damiyanti¹, Ellyza Herda¹

¹Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

Abstrak

Latar Belakang: Karies gigi merupakan penyakit gigi dengan prevalensi tinggi di Indonesia. Proses demineralisasi pada gigi terjadi karena paparan zat yang bersifat asam, sehingga diperlukan proses remineralisasi untuk memperbaiki kondisi tersebut. **Tujuan**: mengetahui pengaruh susu sapi dan protein whey terhadap kekerasan permukaan email gigi yang telah mengalami demineralisasi. **Metode**: Dua puluh satu spesimen email gigi premolar manusia diukur kekerasannya, dilakukan demineralisasi dengan asam sitrat 1% (pH 2,5), Gigi dibagi dalam 3 kelompok (n=7), masing-masing kelompok direndam dalam susu sapi, protein whey, dan aquades selama 90 menit (asumsi konsumsi susu sapi/protein whey selama 3 bulan). Nilai kekerasan email diuji dengan Knoop Microhardness Tester dengan beban 25 gram selama 5 detik. Hasil: melalui uji statistik Repeated Anova menunjukkan email yang telah terdemineralisasi dan direndam susu sapi maupun protein whey mengalami peningkatan kekerasan yang siknifikan (p<0.05), walaupun masih belum menyamai kekerasan awal permukaan email. Perbedaan kekerasan antara kelompok yang direndam susu sapi dan kelompok protein whey tidak siknifikan (p>0,05). **Simpulan:** Susu sapi maupun protein whey dapat meremineralisasi permukaan email gigi, namun masih belum dapat mengembalikan nilai kekerasan permukaan email seperti nilai kekerasan awalnya.

Kata Kunci: Susu sapi, protein whey, kekerasan permukaan email.

Korespondensi:

Liesma Dzulfia

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia, Jakarta 10430, Indonesia

E-mail: <u>liesmadzulfia@gmail.</u> <u>com</u>; miadamiyanti@gmail.com

28 JMKG 2016;2(5):28-35

The Effect of Bovine Milk and Whey Protein on Enamel Hardness after Demineralization

Abstract

Background: Caries has high prevalence oral problem in Indonesia. Bovine milk and its product has been proven to have anticariogenic effect. Objective: To analyze effect of immersed enamel surface in bovine milk and protein whey after demineralization. Methods: Twenty one specimens of human premolar tooth enamel measured its hardness before the treatment, after demineralized with 1% citric acid (pH 2.5), and after immersed in bovine milk, whey protein and aquades for 90 minutes. Enamel hardness number was measured using Knoop Microhardness Tester with 25 g load for 5 seconds. Result: Statistical analysis with Repeated Anova showed significant increased of enamel hardness in bovine milk and protein whey groups (p<0.05). There was no significant differences between group immersed in bovine milk and whey protein (p>0.05). **Conclusion:** Bovine milk and whey protein could remineralize enamel surface but not be able to restore the original value of email surface hardness.

Keywords: Bovine milk, whey protein, enamel surface hardness.

Pendahuluan

Karies masih menjadi permasalahan gigi dan mulut pada masyarakat Indonesia dengan nilai prevalensi yang cukup tinggi. Berdasarkan data Riskesdas 2013, angka DMF-T (*Decayed Missing Filling Teeth*) di Indonesia pada tahun 2013 sebesar 4,6 yang berarti kerusakan gigi pada masyarakat Indonesia sejumlah 460 buah gigi per 100 orang.¹ Karies gigi terjadi karena adanya proses demineralisasi yang merupakan proses hilangnya unsur mineral pada gigi, sedangkan remineralisasi merupakan proses penempatan mineral baru ke dalam gigi yang terdemineralisasi.²

Demineralisasi merupakan proses hilangnya unsur mineral pada gigi. Demineralisasi dipengaruhi oleh adanya bakteri pada plak dan karbohidrat, sedangkan remineralisasi merupakan tahap pengembalian mineral baru ke dalam gigi yang terdemineralisasi. Remineralisasi dipengaruhi oleh saliva, kebersihan mulut, fluor dan faktor-faktor protektif alami lainnya. Kestabilan pada lingkungan rongga mulut dipengaruhi oleh kedua proses tersebut dan dikendalikan oleh faktor-faktornya atau disebut juga sebagai siklus demineralisasi-remineralisasi. Ketika proses demineralisasi lebih besar dibanding proses remineralisasi, email gigi akan mengalami karies.²

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi nilai kekerasan gigi antara lain adalah terjadinya disolusi oleh faktor instrinsik dan ekstrinsik. Faktor Ekstrinsik diantaranya asam yang berasal dari medikasi, makanan maupun minuman. Sebagai contoh adalah Asam sitrat pada buah-buahan yang memiliki pH rendah, mengandung ion Citrate sebagai chelating agent yang akan membentuk larutan kompleks dengan ion

kalsium sehingga memicu terjadinya disolusi pada enamel gigi.³

Salah satu hal yang dianggap dapat mengatasi resiko terjadinya karies gigi adalah dengan mengkonsumsi susu. Susu dapat mengurangi erosi pada email gigi, karena mengandung fluor dan kalsium alami yang baik untuk gigi.4 Susu telah direkomendasikan untuk dikonsumsi sebagai pemaparan fluor pada rongga mulut selama lebih dari 50 tahun. Sebagai sumber susu dapat dihasilkan dari susu sapi, susu kambing dan susu kerbau.5 Susu sapi telah terbukti mengandung fluor dan dapat meningkatkan remineralisasi. Penelitian Rahardjo dkk. membuktikan bahwa aplikasi topikal menggunakan susu memiliki efek perlindungan paling baik terhadap demineralisasi dibandingkan dengan aplikasi kombinasi susu-teh dan susu dengan 0,2% NaF.6 Protein pada susu mempunyai komponen 80% kasein dan 20% whey. Kasein umumnya digunakan untuk pembuatan keju, sedangkan whey merupakan hasil sampingan dari pembuatan keju.⁵ Telah diketahui protein whey memiliki kandungan protein yang tinggi. Minuman protein whey menjadi populer karena manfaatnya banyak dirasakan, misalnya sebagai antimikroba, berperan dalam yang peningkatan imunitas, kesehatan kardiovaskular serta mempertahankan berat badan.⁷ Protein whey juga dikonsumsi sebagai suplemen olahraga untuk meningkatkan massa otot.7 Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak whey ternyata lebih efektif dalam meningkatkan kekerasan mikro enamel dibanding dengan Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP).8 Glikomakropeptida yang terkandung dalam protein whey menunjukkan aktifitas menghambat demineralisasi dengan membentuk lapisan pelindung terhadap asam.⁷ Penelitian Yalcin (2006)juga menyatakan beberapa komponen whey memiliki efek anti kariogenik.9

Sebagai minuman yang dikonsumsi setiap hari, susu sapi maupun protein whey juga dapat digunakan sebagai agen remineralisasi, karena keduanya memiliki kalsium dan fosfor alami yang dibutuhkan dalam remineralisasi. Namun demikian belum ada penelitian mengenai pengaruh susu sapi dan protein whey terhadap kekerasan email gigi yang telah mengalami demineralisasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsumsi susu sapi dan protein whey sebagai minuman alternatif yang dapat membantu terjadinya remineralisasi gigi yang telah mengalami demineralisasi melalui perendaman larutan asam sitrat.

Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan gigi premolar rahang atas manusia yang diindikasikan pencabutan untuk perawatan orthodonti (telah lolos kaji etik). Gigi diseleksi dengan kriteria inklusi bebas karies, tidak mengalami diskolorasi dan tidak retak. Jumlah sampel dihitung menggunakan aplikasi G*Power versi 3.0.10 for Windows dan didapatkan total sampel 21. Gigi premolar dikumpulkan dan disimpan di dalam larutan saline.

Persiapan Spesimen:

Spesimen gigi di potong di bagian servikal menggunakan carborandum disk untuk memisahkan bagian mahkota dan akar. Dilakukan mounting pada gigi menggunakan dekoratif dengan bagian menghadap ke atas. dilakukan pengamplasan spesimen menggunakan amplas SiC nomor 1000 dilanjutkan penghalusan menggunakan alumina water based suspension ukuran 1µm. Proses tersebut menggunakan grinding and polishing machine. Ketebalan spesimen dipantau menggunakan mikrometer digital memastikan pengamplasan pemolesan tidak lebih dari 100µm (0,1 mm). Seluruh spesimen (n=21) diukur kekerasan awalnya menggunakan alat uji kekerasan Knoop Zwick Roell Microhardness Tester. Permukaan email diuji kekerasannya dengan lima kali indentasi pada lima titik berbeda dengan beban 25 gram selama 15 detik.

Proses Demineralisasi dan Remineralisasi

Digunakan Asam sitrat 1% dengan cara melarutkan 1 gram bubuk asam sitrat ke dalam 100 ml aquades, diaduk menggunakan alat Thermo Scientific Nuova Stir Plate ®. pH diukur dengan alat Thermo Orion pH meter 290A+ . Dilakukan perendaman seluruh spesimen di dalam asam sitrat 1% (pH 2,5) selama 90 menit (dengan asumsi konsumsi susu sapi/protein whey selama 3 bulan /1 satu kali konsumsi selama 1 menit) di dalam inkubator dengan suhu 37°C. Kekerasan permukaan email setelah demineralisasi diuji kembali dengan metode yang sama. Dalam proses remineralisasi Spesimen dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok pertama direndam di dalam aquades sebagai kontrol. Kelompok kedua direndam di dalam susu sapi Ultra Milk Full Cream®, dan kelompok ketiga direndam di dalam Prostar 100% Whey Protein® . Perendaman dilakukan selama 90 menit dengan asumsi konsumsi susu sapi / protein whey dilakukan per 1 menit satu kali konsumsi /hari selama 3 bulan. Perendaman dalam inkubator dengan suhu 37° menyesuaikan kondisi rongga mulut. Kemudian diukur kekerasan email diukur kembali . Data nilai kekerasan email pada penelitian ini diuji normalitas datanya (uji normalitas Saphiro-Wilk.) Selanjutnya Repeated Anova dilakukan uji masing-masing kelompok untuk melihat perbandingan nilai kekerasan awal email gigi dan setelah demineralisasi serta setelah perendaman dengan susu sapi, protein whey dan aquades. Data nilai kekerasan email aantar perlakuan dianalisis dengan uji statistik One way Anova untuk melihat siqifikansi perbedaan nilai kekerasan antar tiap kelompok perlakuan.

Hasil Penelitian

Hasil Uji normalitasnya dengan Uji Saphiro-Wilk, menunjukkan distribusi yang normal dan homogen (p<0,05). Hasil nilai rerata kekerasan (KHN) sebelum dan setelah demineralisasi serta setelah diremdam selama 90 menit menunjukkan hasil sebagai berikut (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil rerata pengukuran nilai kekerasan permukaan email gigi

Kelompok Perlakuan	Nilai kekerasan permukaan email (KHN)					
	Awal	Demineralisasi	Presentase penurunan (%)	Remineralisasi	Presentase peningkatan (%)	
Aquades (Kontrol)	402,18 ± 35,56	155,45 ± 36,86	61,3	204,54 ± 27,05	31,5	
Susu sapi	402,18 ± 35,56	155,45 ± 36,86	61,3	260,74 ± 44,94	67,7	
Protein Whey	402,18 ± 35,56	155,45 ± 36,86	61,3	261,57 ± 43,90	68,2	



Gambar 1. Diagram nilai kekerasan awal permukaan email gigi, setelah demineralisasi dan setelah perendaman pada susu sapi, protein whey, aquades

Pada gambar 1 dapat dilihat perbedaan nilai awal dengan setelah permukaan email direndam dalam aquades, susu sapid an protein whey

Nilai rerata kekerasan awal email gigi adalah 402,18 \pm 35,56 KHN. Setelah dilakukan demineralisasi, terjadi penurunan nilai kekerasan email menjadi 155,45 \pm 36,86 KHN.

Hasil uji statistik *Repeated Anova* tersebut menunjukkan penurunan yang siknifikan (p<0,05).

Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa hasil uji menunjukkan setelah dilakukan perendaman dengan susu sapi, protein whey, dan aquades, terjadi peningkatan kekerasan email. Apabila perendaman pada susu sapi dibandingkan dengan perendaman pada protein whey terlihat nilai kekerasan email yang hampir sama, artinya perbedaan tidak siknifikan (p>0,05). Namun jika dibandingkan dengan perendaman pada aquades, keduanya menunjukkan perbedaan

yang siknifikan (p<0,05), hasil statistik *Oneway Anova* tersebut dapat dilihat pada Tabel3.

Remineralisasi dengan susu sapi, protein whey dan aquades pada email gigi yang telah terdemineralisasi masih belum dapat mengembalikan nilai kekerasan awal email gigi. Berdasarkan hasil uji statistik, nilai kekerasan email setelah remineralisasi pada ketiga kelompok jika dibandingkan dengan nilai kekerasan awal email menunjukkan hasil yang berbeda siknifikan (p<0,05). Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel2.

Pembahasan

Demineralisasi adalah proses larutnya mineral pada gigi.² Larutnya mineral gigi dapat ditandai dengan meningkatnya erosi pada email serta terjadi penurunan nilai kekerasan mikro permukaan email.¹⁵ Demineralisasi dapat terjadi apabila pH saliva berada di bawah pH kritis hidroksiapatit

Tabel 2. Nilai Kemaknaan Uji Repeated Anova

Variabel	Perbandingan	Nilai Kemaknaan	Keterangan
Aquades	Awal-Demineralisasi	p<0,05	siknifikan
	Demineralisasi-Remineralisasi	p<0,05	siknifikan
	Remineralisasi-Awal	p<0,05	siknifikan
Susu sapi	Awal-Demineralisasi	p<0,05	siknifikan
	Demineralisasi-Remineralisasi	p<0,05	siknifikan
	Remineralisasi-Awal	p<0,05	siknifikan
Protein whey	Awal-Demineralisasi	p<0,05	siknifikan
	Demineralisasi-Remineralisasi	p<0,05	siknifikan
	Remineralisasi-Awal	p<0,05	siknifikan

Keterangan: Nilai kemaknaan p<0,05

Tabel 3. Nilai Kemaknaan Uji Statistik Oneway Anova

Perlakuan	Perbandingan	Nilai P	Keterangan
Kontrol	Perendaman protein Whey	p<0,05	Siknifikan
	Perendaman susu sapi	p<0,05	Siknifikan
Perendaman susu sapi	Perendaman susu sapi	p>0,05	Tidak siknifikan
	Kontrol	p<0,05	Siknifikan
Perendaman protein	Perendaman protein whey	p>0,05	Tidak siknifikan
whey	Kontrol	p<0,05	Siknifikan

Keterangan: Nilai kemaknaan p<0,05

yaitu 5,5. Dalam penelitian ini sebagai agen demineralisasi digunakan asam sitrat 1% yang disimulasikan sebagai minuman ataupun jus dan buah-buahan seperti jeruk nipis, mangga, lemon serta nanas yang umumnya mengandung asam sitrat (kandungan ratarata dari minuman soft drink dan buahbuahan tersebut sekitar 1%) 10 . Pada penelitian ini perendaman dalam asam sitrat 1% pH 2,5 ternyata menunjukkan adanya penurunan nilai kekerasan permukaan email gigi sebanyak 61,3%. Ion citrate yang terkandung dalam asam sitrat sebagai chelating agent membentuk senyawa kompleks dengan ion kalsium, dan memicu larutnya mineral gigi.¹¹ Perendaman dalam asam sitrat 1% telah melarutkan mineral gigi hanya dalam waktu 120 detik. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Barbour, Parker, Allen, dan Jandt (2003), yang melakukan perendaman gigi pada asam sitrat dengan pH 2,3 selama 120 detik menghasilkan penurunan nilai kekerasan email yang berbanding lurus dengan nilai pH yang semakin rendah.11 Barbour dkk membuktikan pada perendaman gigi dalam pH 2,3-2,9 menghasilkan penurunan sebesar 91% dari kekerasan awalnya. 11 Demikian pula penelitian yang dilakukan Zheng, Xiao, Qian dan Zhou (2009) telah membuktikan bahwa perendaman gigi dalam asam sitrat pH 3,2 telah menurunkan nilai kekerasan mikro email gigi sebesar 16% secara signifikan dalam 2 menit.3

Gigi yang telah terdemineralisasi, dapat mengalami remineralisasi kembali. Pada proses remineralisasi akan terjadi proses penempatan mineral baru ke dalam gigi yang telah terdemineralisasi. Remineralisasi akan terjadi ketika pH kembali normal dan terdapat ion kalsium dan fosfor yang cukup.2 Pada penelitian ini, susu sapi memiliki pH 6,8 dan dalam 100 gram susu sapi UHT mengandung 117 mg kalsium dan 84,2 mg fosfor. Sedangkan pada protein whey (pH 6,1), dalam tiap 100 gram protein whey mengandung 36,50 mg kalsium dan 42,7 mg fosfor. 5 Kedua mineral ini merupakan mineral yang dibutuhkan dalam terjadinya remineralisasi.

Hasil penelitian telah menunjukan terjadi peningkatan nilai kekerasan email gigi pada perendaman dalam aquades sebesar 31,5% sedangkan pada perendaman dengan susu sapi , 67,7% dan perendaman pada protein whey 68,2% . Hal ini membuktikan telah terjadinya remineralisasi. Magalhães dkk (2014) membuktikan bahwa secara in vitro susu dapat mengurangi erosi pada email secara siknifikan sebesar 24%.4 Kandungan lemak dan protein yang tinggi pada susu dapat mengendap ke dalam permukaan gigi, membentuk lapisan pelindung untuk mengurangi kontak asam dengan permukaan gigi. Susu juga terbukti dapat melepas *fluor* ke lingkungan rongga mulut. Fluor telah terbukti sangat efektif sebagai material preventif karies gigi. Fluor dapat berikatan dengan hidroksiapatit secara kimia sehingga membentuk fluoroapatit.4 Rahardjo dkk (2014), dalam penelitiannya membuktikan melalui bahwa aplikasi topikal dengan menggunakan susu ternyata memiliki efek perlindungan paling baik terhadap demineralisasi dibandingkan dengan aplikasi kombinasi susu-teh dan susu dengan 0,2% NaF. Fluor dan kalsium yang terkandung di dalam susu memiliki peran yang penting dalam mencegah karies gigi, dengan membatasi demineralisasi dan meningkatkan remineralisasi.6

Protein whey sebagai hasil sampingan dalam pembuatan keju, merupakan suatu jajaran pecahan protein yang ditemukan dalam susu.5,12 Salah satu protein utama dalam protein whey adalah glikomakropeptida. Glikomakropeptida menunjukkan aktifitas inhibitor pada demineralisasi enamel.7 Menurut Johansson (2002) dan Aimutis (2004), glikomakropeptida dapat mengurangi perlekatan bakteri penyebab karies, dalam hal ini Streptococcus mutans, dengan menyatu pada pelikel gigi. 13,14 Penelitian yang dilakukan oleh Rezvani, Karimi, Akhavan, dan Haghgoo (2015) juga menunjukkan peningkatan nilai kekerasan email sebesar 30% yang signifikan pada spesimen gigi premolar manusia yang direndam dalam whey selama 8 menit. Rezvani bahkan membuktikan bahwa ekstrak whey lebih efektif sebagai agen remineralisasi jika dibandingkan denganCPP-ACP.8

Penelitian ini menggunakan aguades dengan рΗ 7,3 sebagai kontrolnya, berbeda dengan penelitian yang dilakukan Rezvani, Karimi, Akhavan, oleh Haghgoo (2015) yang menggunakan saliva buatan sebagai kontrol.8 Saliva buatan mengandung kalsium klorida, kalium fosfat dan mineral lainnya yang lebih adekuat dalam mendukung terjadinya remineralisasi dibanding aquades.15 Terjadi peningkatan nilai kekerasan email gigi pada kelompok spesimen email yang direndam aquades, hal ini terjadi karena aquades yang digunakan pada penelitian ini mungkin mengandung mineral. Aquades disebut juga sebagai low mineral water karena walaupun sudah melalui proses penyulingan masih mengandung sedikit mineral.16

Hasil uji statistik Repeated Anova pada ketiga perlakuan menunjukkan setelah di demineralisasi terjadi peningkatan nilai kekerasan yang siknifikan. Protein whey, susu sapi maupun aquades membuktikan terjadinya remineralisasi, walaupun belum dapat mengembalikan nilai kekerasan mikro permukaan email sebagaimana nilai kekerasan awalnya. Hal ini disebabkan karena remineralisasi yang terjadi tidak sebanding dengan permukaan email yang mengalami erosi akibat demineralisasi oleh asam sitrat 1% (pH 2,5). Hasil uii Oneway Anova pada kelompok perlakuan protein whey dan susu sapi menunjukkan perbedaannya tidak siknifikan atau sama. Akan tetapi antara kelompok protein whey dengan aquades menunjukkan perbedaan yang siknifikan. Begitu juga antara kelompok email yang direndam susu sapi dan aquades, menunjukkan perbedaan yang siknifikan. Hal ini menunjukkan bahwa jika hanya dengan aquades dapat terjadi remineralisasi namun tidak sebaik jika mengonsumsi susu sapi dan protein whey. Konsumsi susu sapi ataupun protein whey dapat memberikan efek yang siknifikan (p<0.05)dalam meningkatkan nilai kekerasan permukaan email.

Simpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan perendaman permukaan email gigi dalam susu sapi maupun protein whey selama 90 menit (setara dengan konsumsi selama 3 bulan) memiliki efek yang siknifikan (p<0.05) dalam meningkatkan kembali kekerasan email gigi yang telah mengalami demineralisasi dengan asam sitrat 1%. Namun demikian efek tersebut belum dapat mengembalikan nilai kekerasan mikro permukaan email seperti nilai kekerasan awalnya.

Daftar Pustaka

- Depkes. Riset Kesehatan Dasar Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI Tahnun 2013 [Internet]. 2013 [cited 2015 May 5]:110– 1. Available from: http://www.depkes. go.id/resources/download/general /Hasil Riskesdas 2013.pdf.
- Mount G, Hume W. 2005. Preservation and Restoration of Tooth Structure. Ed.Ke-2. Sandgate: Qld.: Knowledge Books and Software; Hlm 1-2, 22-23.
- 3. Zheng J, Xiao F, Qian LM, Zhou ZR. 2009. Erosion behavior of human tooth enamel in citric acid solution. *Tribology International*. 42(11-12):1558-64.
- 4. Magalhães A et al. 2014. Inhibition of tooth erosion by milk containing different fluor concentrations: An in vitro study. *Journal of Dentistry*. 42(4): 498-502.
- Park,Y., Haenlein, G. 2013. Milk and dairy products in human nutrition. Ed Ke-1. Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell. Hlm. 174,478,486.
- Rahardjo A, Sahertian RD, Ramadhani SA, Maharani DA, Latief FDE. 2014. The Effect of Milk or its Combination with Tea and 0.2% NaF on Dental Enamel Demineralization Analyzed by Micro Computed Tomography. *Journal of Dentistry Indonesia*. 21(2):53-6.
- 7. Bulut SB, Akin N. 2012. Health benefits of whey protein: a review. *Journal of Food*

- Science and Engineering. 2:129-137.
- 8. Rezvani MB, Karimi M, Akhavan R, Haghgoo R. 2015. Comparing the Effects of Whey Extract and Case in Phosphopeptide- Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Enamel Microhardness. *J Dent Shiraz Univ Med Sci.* 16 (1):49–53.
- 9. Yalcin A S. 2006. Emerging therapeutic potential of whey proteins and peptides. *Current Pharmaceutical Design.* 12 (13):1637–43.
- 10. West N, Hughes J, Addy M. 2001. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. *Journal of Oral Rehabilitation*.28 (9):860-864.
- 11. Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. 2003. Human enamel dissolution in citric acid as a function of pH in the range 2.30≤pH≤6.30-A nanoindentation study. *Euro J Oral Science*. 111 (3):258–62.

- 12. Paul J. 2006. Nutrisi Olahraga Protein Whey A . S . dalam Nutrisi Olahraga [Internet]. US Dairy Export Council. [cited 2015 May 4]:1–12. Available from: http://www.usdec.org
- 13. Johansson I. 2002. Milk and dairy products: possible effects on dental health. *Food & Nutrition Research*. (12):119–22.
- 14. Aimutis WR. 2004. Bioactive Properties of Milk Proteins with Particular Focus on Anticariogenesis. *Journal of Nutrition*. 134 (4):989–96.
- 15. Devlin H, Bassiouny MA, Boston D. 2006. Hardness of enamel exposed to Coca-Cola and artificial saliva. *Journal Oral Rehabilitation*. 33:26-30.
- 16. Kozisek F. Health risks from drinking demineralised water [Internet]. http://www.who.int/ water_sanitation_health/en/. 2015 [cited 26 December 2015].