

Pengaruh jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap indeks stain tembakau

¹Hafsah Katu, ²Diah Ayu Lestari

¹Bagian Konservasi

²Mahasiswa tahap profesiofessional

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

Makassar, Indonesia

ABSTRACT

*Tobacco stain is very disturbing for our appearance. Removing tobacco stain by dentist were common use abrasive agent or remover liquid fabricated that has high acid level. Recently, using naturals agent more popular that was trigger to investigated many study with "Back to nature" concept. This study was aimed to know Lime (*Citrus aurantifolia*) influence to changing value of tobacco stain indeks. This laboratory experimental with pre and post test control group. The present study was conducted on 2010 may 10th- 20th in Biochemical Laboratory Faculty of Medicine Hasanuddin University. Numerous 30 maxillary central incisor its has been extracted, aquades, Lime, Stain remover fabricated, Tobacco (available from traditional market). This study was divided in two step. Step1 tobacco stain manipulated. 120 ml hot water poured above 12 gr tobacco in erlemeyer, tobacco dregs took out from water pour 5 minute, change with sampel and incubation for ten days at temperatur 37 °C. Tobacco liquid change with new liquid everyday. Step 2 Removing tobacco stain. Samples that have tobacco stain divided in to three group, each 10 sample. Group I immers in aquades (negative control). Group II immers in lime (test group). Group III immers in stain remover fabricated (positive control). Measuring by Shaw and Murray stain index was conducted before and after immers 15 minutes and repeatly each end 30th, 45th, and 60th minutes. Statistic analyzed SPSS versi 11.5 for windows programe with Kruskal Wallis and Mann Whitney test. The results have a meaning in statistic analyzed ($p < 0.05$) Lime has made tobacco stain index decrease. it was concluded Lime was influence to decrease tobacco stain indeks.*

Keyword: tobacco stain, maxillary centrak incisor, lime

ABSTRAK

Stain akibat tembakau sangat mengganggu penampilan. Pembersihan stain tembakau oleh dokter gigi biasanya dilakukan dengan pemolesan menggunakan bahan abrasif atau dengan cairan pembersih sediaan pabrik yang berkadar asam tinggi. Belakangan ini penggunaan bahan-bahan alam makin populer dan memicu berbagai penelitian dengan konsep *back to nature*. Salah satu bahan alam yang diduga dapat membersihkan stain tembakau adalah air perasan jeruk nipis. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap perubahan nilai indeks stain tembakau pada permukaan gigi. Untuk maksud tersebut dilakukan penelitian eksperimen laboratorium dengan rancangan *pre and post test with control group*. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 10-20 Mei 2010 di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Sejumlah 30 gigi insivius sentralis permanen rahang atas yang telah dicabut, akuades, jeruk nipis, larutan pembersih stain sediaan pabrik dan tembakau (sediaan yang diperoleh di pasar tradisional). Penelitian ini dibagi dalam dua tahap. Tahap 1 manipulasi stain tembakau. Sebanyak 12 gram tembakau diseduh di dalam tabung erlemeyer dengan air hangat sebanyak 120 ml selama 5 menit. Setelah 5 menit ampas tembakau dikeluarkan dan sampel gigi kemudian dimasukkan ke dalam air tembakau dan diinkubasi selama 10 hari pada suhu 37°C. Air tembakau diganti setiap hari. Tahap 2 tahap pembersihan stain tembakau. Sampel yang pada permukaannya telah terdapat stain tembakau dibagi tiga kelompok masing-masing 10 sampel. Kelompok I direndam dalam akuades (kontrol negatif). Kelompok II direndam di dalam air jeruk nipis (kelompok perlakuan) dan kelompok III direndam di dalam larutan pembersih stain sediaan pabrik (kontrol positif). Dilakukan pengukuran nilai indeks stain (Shaw dan Murray) pada ketiga kelompok sebelum dan setelah perendaman. Nilai indeks stain diukur pada setiap akhir periode perendaman yaitu pada menit ke-15 dilanjutkan pada menit ke-30, ke-45 dan pada menit ke-60. Data dianalisis menggunakan program SPSS versi 11,5 *for windows* dengan uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney. Uji statistik ($p < 0,05$) menunjukkan penurunan nilai indeks stain secara bermakna. Disimpulkan bahwa jeruk nipis menurunkan nilai indeks stain tembakau.

Kata kunci: stain tembakau, gigi insivius sentralis permanen rahang atas, jeruk nipis

PENDAHULUAN

Gigi adalah salah satu organ tubuh yang merupakan bagian integral wajah yang memiliki beberapa fungsi sangat penting. Salah satu fungsi tersebut selain fungsi mastikasi dan fonetik adalah fungsi estetik. Faktor-faktor yang berhubungan dengan fungsi estetik pun ada beberapa, satu diantaranya adalah warna. Senyum yang indah dan menarik dipengaruhi oleh warna alami gigi di balik senyum tersebut akan menambah rasa percaya diri seseorang.^{1,2}

Periode gigi-geligi dalam kehidupan manusia ada dua, yaitu periode gigi sulung dan permanen. Gigi sulung normalnya berwarna putih kebiru-biruan atau menyerupai warna susu, sedangkan gigi permanen berwarna kuning keabu-abuan. Warna gigi yang berbeda dari warna normal dianggap berubah dan perubahan tersebut dikenal dengan istilah *stain* (noda) yang dapat disebabkan oleh dua faktor yaitu faktor dari dalam (intrinsik) dan faktor yang berasal dari luar (ekstrinsik). Proses menua, akibat penggunaan tetrasiklin oleh ibu hamil dan fluorosis merupakan contoh-contoh perubahan intrinsik. Perubahan warna gigi karena faktor ekstrinsik dapat terlihat pada gigi yang ditumpat dengan bahan amalgam. Selain itu dapat berasal dari perlekatan warna makanan atau minuman seperti kopi, teh, wine yang umumnya menimbulkan bercak hitam kecoklatan. Warna coklat hitam dari tembakau pada perokok juga termasuk *stain* ekstrinsik. Timbulnya *stain* ekstrinsik pada gigi terjadi secara perlahan dalam jangka waktu yang lama.^{2,3}

Stain sulit dibersihkan hanya dengan menyikat gigi. Teknik pembersihan *stain* yang biasa dilakukan oleh dokter gigi di klinik adalah cara mekanik dan atau cara kimia. Pembersihan *stain* secara mekanik dengan menggunakan instrumen abrasif kombinasi bahan poles sedang secara kimia dengan mengulaskan larutan kimia yang dikenal dengan merek dagang *Oco*. Larutan *oco* bersifat sangat asam sehingga dapat menyebabkan efek samping yang merugikan seperti gigi menjadi sensitif pasca perawatan.⁴

Tembakau, *wine*, demikian juga garam-garam logam seperti tembaga, perak dan emas membentuk *stain* dengan warna khas seperti hijau, coklat, oranye dan ungu yang pekat dan kemudian menjadi kehitaman. *Stain* tembakau timbul bukan hanya karena kebiasaan merokok tetapi ada kebiasaan lain meletakkan tembakau bola-bola pada lipatan antara mukosa pipi dan gingiva. Kebiasaan ini terutama pada mereka yang menginang sirih dan dilakukan sebagai tahap akhir proses menginang. Tembakau menghasilkan getah atau cairan dalam rongga mulut yang kemudian terpenetrasi kedalam pit dan fisur gigi yang kemudian mengendap pada seluruh permukaan gigi terutama pada permukaan lingual/palatal gigi. Pada umumnya *stain* bebas bakteri, tidak menyebabkan iritasi pada jaringan gingiva. Selain itu *stain* tidak menjadi fokus deposisi plak tetapi sangat mengganggu estetik sehingga menjadi masalah yang cukup serius bagi hampir semua orang.⁴⁻⁶

Menurut taksonominya tembakau termasuk spesies *nicotiana spp.*, *L* dari genus *nicotiana L.* dan family *solanaceae*. Tembakau merupakan serapan dari bahasa asing, "*tabaco*" (Spanyol), "*tabacco*" (Inggris) dan "*tabbaq*" (Arab), yang dikenal sejak abad ke-9 sebagai jenis tumbuhan berdaun lebar yang berasal dari Amerika Utara dan Amerika Selatan. Dalam kehidupan sehari-hari tembakau dapat diperoleh secara komersil dalam bentuk sediaan kering yang awet.^{7,8}

Jeruk nipis merupakan nama umum yang dikenal masyarakat Indonesia dengan beberapa nama daerah seperti jeruk pecel (Jawa) dan Limau asam (Sunda). Di Inggris tumbuhan ini dikenal dengan nama *Lime*, *Lima* (Spanyol), dan *Limah* (Arab) adalah jenis *Citrus aurentifolia L* dari spesies *Citrus aurentifolia Swingle*, family *Rutaceae*. Batang tumbuhan ini berkambium, berbentuk bulat memiliki duri pendek kaku dan tajam. Di Indonesia tanaman ini tumbuh baik secara alami atau pun dibudidayakan, dan berbuah sepanjang tahun. Air buah jeruk nipis memiliki rasa yang bervariasi, ada yang pahit tetapi umumnya asam dan sedikit dingin. Air buah jeruk nipis banyak mengandung unsur-unsur senyawa yang bermanfaat seperti asam sitrat dan asam amino terutama triptofan dan lisin, minyak atsiri seperti limonen dan lain-lain. Selain itu air buah jeruk nipis juga mengandung kalsium, fosfor, saponin, flavonoid, vitamin B1 dan vitamin C. Kandungan asam sitrat buah jeruk nipis cukup tinggi yakni berkisar 8% dari berat kering buah, khusus buah jeruk nipis lokal kandungan asam sitratnya lebih besar (berkisar 55,6 g/kg), sepuluh kali lebih besar dibanding kandungan sitrat buah jeruk keprok atau enam kali lipat dibanding air buah jeruk manis. Penggunaan asam sitrat buah jeruk nipis cukup luas, diantaranya sebagai penambah cita rasa dan pengawet makanan maupun minuman terutama minuman ringan. Asam sitrat digunakan sebagai penyedap masakan, sebagai penyegar dan pembersih karat pada logam, selain itu sebagai bahan dasar pembersih peralatan rumah tangga.⁹⁻¹¹

Dewasa ini penggunaan bahan-bahan alam dengan istilah *back to nature* menjadi sangat populer. Di bidang kedokteran gigi para ahli terus berupaya meningkatkan pengetahuan mengenai bahan alam dan

pemanfaatannya sebagai material klinis dan laboratoris. Beberapa bahan alam yang sudah lama dikenal manfaatnya di bidang kedokteran gigi, di antaranya, minyak cengkeh (*eugenol*), getah jarak, dan daun sirih¹¹⁻¹³

Pada beberapa literatur dapat ditemukan penjelasan bahwa ada beberapa jenis buah tanaman yang dapat digunakan untuk membersihkan *stain* pada permukaan gigi, contohnya stroberi, apel, selada, dan jeruk nipis. Penjelasan-penjelasan tersebut belum sepenuhnya bersifat ilmiah sehingga sebelum penelitian ini dilakukan lebih dahulu dilakukan penelitian pendahuluan terhadap buah jeruk nipis, buah stroberi dan membandingkannya dengan larutan *oco*. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa larutan *oco* memiliki pH 0,41 lebih rendah dibandingkan pH air perasan buah jeruk nipis (2,5), juga lebih rendah dari pH buah stroberi (5,8). Keasaman air perasan buah jeruk nipis lebih tinggi dibanding pH larutan *oco*, tetapi lebih rendah dibanding pH buah stroberi, sehingga air perasan buah jeruk nipis dapat direkomendasikan sebagai bahan alternatif pembersih *stain* pada permukaan gigi termasuk stain tembakau. Penggunaan air perasan buah jeruk nipis sebagai pembersih *stain* relatif aman, mudah diperoleh juga harga terjangkau.

Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh air perasan buah jeruk nipis terhadap penurunan nilai indeks stain tembakau pada permukaan gigi dan membandingkannya dengan larutan *oco*. Selain itu untuk mengamati kelarutan garam mineral kalsium dan magnesium yang terdapat pada email dan dentin, setelah perendaman gigi pada periode waktu tertentu.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dari tanggal 10-20 Mei 2010. Penelitian ini adalah eksperimen laboratorium dengan disain *pre and post test with control group*. Variabel bebas adalah air perasan buah jeruk nipis. Alat yang dipakai adalah timbangan digital, pH meter, oven, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, gelas ukur, inkubator, tabung erlenmeyer, corong, pengaduk, sentrifus dan kaca arloji. Bahan yang dipakai antara lain buah jeruk nipis, tembakau komersil, larutan *oco*, aluminium foil, akuades dan gigi insisivus satu permanen rahang atas yang sudah diekstraksi. Penelitian dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah manipulasi stain tembakau dan tahap kedua pembersihan stain. Pada tahap pertama dilarutkan 12 g (3 sendok teh) serbuk tembakau ke dalam 120 ml air hangat selama lima menit. Setelah itu larutan tembakau disaring dan air saringan diambil sebanyak 100 ml. Selanjutnya 30 sampel gigi yang memenuhi kriteria dimasukkan dalam air larutan tembakau dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 10 hari, air tembakau diganti setiap hari. Setelah 10 hari gigi sampel dikeluarkan dari rendaman lalu ditiriskan, selanjutnya indeks stain tembakau diukur dengan indeks Shaw dan Murray. Sebelum lanjut ke tahap kedua, lebih dahulu dilakukan pengukuran pH larutan uji dan larutan kontrol positif menggunakan pH meter digital. Buah jeruk nipis dipotong menjadi bagian-bagian kecil, diperas dan disaring dengan kain tipis berukuran 20x20 cm. Sebanyak 10 tabung reaksi diberi nomor 1 sampai 10 diisi masing 1ml larutan uji. Sama seperti pada kelompok uji, pada kelompok kontrol positif, pada 10 tabung reaksi diisi masing-masing 1 ml *oco* dan diberi nomor 11 sampai 20; demikian juga pada tabung berisi larutan kontrol negatif dengan label nomor 21 sampai 30. Sampel gigi kemudian direndam dalam larutan uji, larutan kontrol positif dan kontrol negatif masing-masing pada periode waktu 15 menit, 30 menit, 45 menit dan 60 menit. Pengukuran indeks stain dilakukan tiap periode waktu di atas. Selanjutnya untuk mengetahui kelarutan garam kalsium, dilakukan uji identifikasi dengan menambahkan 1 ml asam sulfat (H₂SO₄) encer ke dalam 0,5 ml larutan uji. Positif mengandung kalsium bila terdapat endapan warna putih. Untuk identifikasi kelarutan garam magnesium, ditambahkan 1 ml amonia(NH₃) kedalam 0,5 ml larutan uji. Positif mengandung magnesium bila terdapat endapan putih. Endapan putih dapat dilihat dengan cara memisahkan cairan dan padatan kemudian masing-masing tabung disentrifus selama 5 menit. Data hasil pengukuran ditabulasi kemudian diolah dengan program *SPSS 11.5 for windows*, dan dianalisis statistik dengan uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney.

HASIL

Analisis pengaruh perendaman pada larutan uji terhadap penurunan nilai indeks stain tembakau pada permukaan gigi

Pada tabel 1 terlihat bahwa pada kelompok uji demikian juga kontrol positif terjadi perubahan berupa penurunan nilai indeks stain sesudah perendaman. Penurunan nilai indeks stain terbesar terjadi pada kontrol positif. Penurunan mulai terlihat pada periode 15 menit dan mencapai 0 pada periode 45 menit. Pada

kelompok uji penurunan nilai indeks stain terjadi secara perlahan dan mencapai angka 0 setelah periode 60 menit.

Tabel 1 Rata-rata simpangan baku dan indeks stain tembakau sebelum dan setelah perendaman pada masing-masing kelompok

Kelompok	n	Indeks stain sebelum perlakuan	Indeks stain setelah perlakuan			
			15 menit	30 menit	45 menit	60 menit
		Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)
Kontrol Negatif	10	2,9 ± 1,197	2,9 ± 1,197	2,9 ± 1,197	2,9 ± 1,197	2,9 ± 1,197
Larutan uji	10	3,10 ± 1,101	2,50 ± 1,269	1,60 ± 1,075	0,90 ± 0,738	0,00 ± 0,000
Kontrol positif	10	3,00 ± 1,054	0,90 ± 0,738	0,10 ± 0,316	0,00 ± 0,000	0,00 ± 0,000

Analisis perbandingan larutan uji dan kontrol positif terhadap perubahan nilai indeks stain tembakau

Untuk mengetahui perbedaan perubahan nilai indeks stain dilakukan Uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui bermakna atau tidaknya penurunan nilai indeks stain rata-rata berdasarkan tabel 1. Hasil uji Kruskal-Wallis (tabel 2) menunjukkan nilai $p < 0,05$ pada semua periode waktu untuk kelompok uji dan kontrol positif, sedangkan pada kelompok kontrol negatif tampak nilai $p > 0,05$.

Tabel 2 Hasil uji *Kruskal-Wallis* dalam beberapa periode waktu perendaman pada larutan uji

Kelompok	n	Lama perendaman (menit)	P
Larutan uji	10	15	0.02*
		30	
		45	
		60	

Bermakna bila = $p < 0.05^*$; n = Jumlah Sampel

Tabel 3 Hasil uji Mann-Whitney terhadap pengaruh setiap kelompok perlakuan pada berbagai periode waktu

Selang waktu	Kelompok														
	Kontrol Negatif					Larutan Uji					Kontrol Positif				
Perendaman	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60
0 menit	-	1	1	1	1	-	0.014*	0.004*	0.004*	0.004*	-	0.004*	0.005*	0.005*	0.005*
15 menit	-	-	1	1	1	-	-	0.003*	0.005*	0.007*	-	-	0.011*	0.007*	0.007*
30 menit	-	-	-	1	1	-	-	-	0.008*	0.011*	-	-	-	0.317	0.317
45 menit	-	-	-	-	1	-	-	-	-	0.014*	-	-	-	-	1
60 menit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Uji *Mann-Whitney* * = bermakna $p < 0,05$

Uji identifikasi dan kelarutan garam-garam mineral kalsium dan magnesium akibat perendaman pada larutan uji dan kontrol positif

Kelarutan kalsium dan magnesium pada tiap selang waktu dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4 Hasil uji identifikasi garam mineral yang terlarut dalam berbagai selang waktu

Kelompok	Identifikasi garam-garam mineral yang terlarut									
	Ca					Mg				
	0	15	30	45	60	0	15	30	45	60
Uji	-	+	+	+	++	-	+	+	+	++
Kontrol Positif	-	++	++++	++++	+++++	-	++	++	++	+++
Kontrol Negatif	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-: tidak ada yang terlarut

+: terlarut (makin banyak "+" berarti makin banyak yang terlarut)

Pada tabel 4 di atas terlihat hasil uji kelarutan kalsium dan Magnesium. Kelarutan terbesar terjadi pada kelompok kontrol positif, kelarutan kalsium lebih besar dibandingkan magnesium dan pada semua selang waktu. Pada kelompok uji kelarutan kalsium dan magnesium sama besar dengan periode selang waktu yang sama sedangkan pada kontrol negatif tidak terjadi kelarutan sampai pada periode 60 menit.

PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui 1) pengaruh perendaman gigi dengan air perasan buah jeruk nipis terhadap penurunan nilai indeks stain tembakau, 2) membandingkan pengaruh air perasan buah jeruk nipis dan larutan *oco* terhadap penurunan indeks stain tembakau, dan 3) membandingkan kelarutan mineral kalsium dan magnesium akibat perendaman dalam air buah jeruk nipis dan larutan *oco*.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa terjadi perubahan penurunan nilai indeks rata-rata sebelum dan sesudah perendaman kecuali pada kontrol negatif. Air perasan buah jeruk nipis (kelompok uji) memiliki kemampuan menurunkan nilai indeks stain tembakau bahkan dapat membersihkan stain tembakau (nilai indeks mencapai nol) pada periode 60 menit, lebih lambat 15 menit, bila dibandingkan dengan larutan *oco*, nilai indeks stain sudah mulai menurun pada periode 15 menit dan membersihkan stain tembakau (nilai indeks mencapai nol) pada periode 45 menit (tabel 1).

Hasil ini sesuai dengan uraian pada beberapa artikel yang menjelaskan bahwa air jeruk nipis berkhasiat memutihkan gigi dan menghilangkan stain pada gigi perokok. Hingga saat ini belum ditemukan hasil penelitian ilmiah mengenai khasiat air perasan buah jeruk nipis kaitannya dengan kegunaan sebagai bahan pembersih stain. Hal ini sesuai dengan pengalaman pribadi, juga dengan beberapa literatur diketahui bahwa keasaman air perasan jeruk nipis sehingga memiliki banyak kegunaan dalam kehidupan sehari-hari misalnya sebagai bahan dasar pembersih pada berbagai peralatan, dapat menghilangkan karat pada logam dan noda pada pakaian. Pada penelitian ini pH jeruk nipis yang diukur ialah 2,54 sedikit lebih tinggi dari pH larutan *oco* 0,41.

Pada penelitian ini didapatkan perbedaan nilai indeks stain setelah perendaman. Secara statistik dengan uji Kruskal-Wallis, perbedaan ini signifikan pada semua rentang waktu untuk kelompok uji dan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$), yakni sedangkan pada kelompok kontrol negatif tidak ada perbedaan bermakna pada semua rentang waktu.

Penggunaan larutan yang bersifat asam dapat mengakibatkan larutnya garam-garam mineral yang terdapat pada gigi. Keasaman larutan uji dan kontrol positif mengakibatkan larutnya kalsium dan Magnesium pada sampel percobaan. Garam-garam mineral yang diuji pada penelitian ini, yaitu kalsium (Ca) dan magnesium (Mg). Hasil uji Ca dan Mg pada kelompok uji tidak berbeda kenaikannya, tampak Ca dan Mg mulai terlarut pada menit ke-15 setelah perendaman dengan jumlah yang sama pada perendaman 30 dan 45 menit. Kalsium dan magnesium tampak makin banyak larut pada periode 60 menit (tabel 4).

SIMPULAN

Dalam keterbatasan penelitian yang telah dilakukan ini diambil simpulan sebagai berikut:

1. Air perasan buah jeruk nipis dapat menurunkan indeks stain tembakau pada permukaan gigi.
2. Penurunan indeks stain tembakau pada permukaan gigi lebih kecil dan lebih lambat bila menggunakan air perasan buah jeruk nipis dibandingkan larutan *oco*.
3. Air perasan buah jeruk nipis demikian juga dengan larutan *oco* keduanya menyebabkan larutnya garam mineral kalsium dan magnesium.

SARAN

Pada penelitian ini terdapat banyak kekurangan dan keterbatasan, oleh sebab itu perlu penelitian lanjutan dengan sampel yang lebih besar dan dengan metode yang berbeda.

1. Perlu dilakukan uji efikasi air perasan buah jeruk nipis sebagai bahan pembersih stain pada permukaan gigi, terutama stain akibat tembakau.
2. Perlu dilakukan uji kekerasan permukaan gigi akibat perlakuan dalam percobaan
3. Perlu dilakukan uji toksisitas dan uji *in vitro* untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaan jeruk nipis sebagai bahan dasar pembersih stain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lampung pos online. Pemutih Gigi Bisa tak Aman Digunakan. Available at; http://www.berita.php_files/bening.gif. Accessed 2 Juni 2009
2. Pandiangan C. Gigi putih dengan bleaching. Available at: "http://rumahkusorgaku.wordpress.com. Accessed 2 Juni 2009
3. Fernances B. Mengenal metode dental bleaching untuk memutihkan gigi. Available at: <http://www.google.com>. Accessed 2 Juni 2009

4. Anonima. European Journal of oral science, spatial Chemical analysis of dental stain using wave length dispersive spectrometry. Available at: http://www.interscience.wiley.com/forwardlinking.abstract_files.jpg.
5. Glickman. Clinical periodontology. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1964.p.207-2.
6. Sandira I. Stain Atau Noda pada Gigi. Available t: <http://www.google.com>. Accessed: 2 Juni 2009
7. Bunting RW. Oral hygiene. US Amerika: Lea & Febiger Philadelphia; 1962. p.125-9.
8. Nur Aziz F. Seri mengenal tanaman tembakau. Available at: <http://blog.beswandjarum.com/fuadnuraiz/2009/11/12/seri-mengenal-tanaman-tembakau.com>. Accessed: 6 May 2009
9. Anonim. Tembakau. Available at: <http://ms.wikipedia.org/wiki/Pertanian>. Accessed: 3 march 2010
10. Manson JD, Elley BM. Buku ajar periodonti. Alih bahasa: Anastasya S. Editor Kentjana S. Jakarta: Hipokrates. 1993. p.29,30-1
11. Fedi PF, Vernino AR, Gray JL. Silabus periodonti. Alih Bahasa: Amaliya. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2005.p.220
12. Desiana F. Tanaman obat indonesia, Citrus Aurantifolia. Available at:http://toiusd.multiply.com/journal/item/169/Citrus_Aurantifolia.com
13. Prasetyo AE. Keasaman minuman ringan menurunkan kekerasan permukaan. Maj Ked Gigi (Dent J) 2005; 38(2):60-6.