

# Sitotoksitas bahan restorasi cyanoacrylate pada variasi perbandingan powder dan liquid menggunakan MTT assay

(Cytotoxicity of the cyanoacrylate restoration material with variation of powder and liquid ratio by using MTT assay)

Asti Meizarini

Bagian Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga  
Surabaya - Indonesia

## ABSTRACT

The requirements for dental material include not toxic, not irritant, no carcinogenic potential, nor cause an allergic response with the use in oral cavity. The cyanoacrylate restoration material has certain substance that can be toxic. Because of the ratio amount of powder and liquid is not known, it can lead the restoration more toxic. The purpose of this study was to know the cytotoxicity of the cyanoacrylate restoration material with different variation of powder and liquid ratio using MTT assay. Six cylinder samples of 5 mm in diameter and 2 mm in thickness were used for each group of 1:1.00; 1:0.75; 1:0.50 powder and liquid ratio of cyanoacrylate restoration materials. Each of samples was immersed in eppendorf micro tubes consisting of media culture. After 24 hour, the immersion of media culture was used to investigate the cytotoxic effect to BHK-21 cell lines by MTT assay method. The density of optic formazan indicated the amount of living cells. All data were statistically analyzed by one-way ANOVA and HSD. The results showed that the percentage of living cells amount of powder and liquid ratio 1:1.00; 1:0.75; 1:0.50 were 98.59%; 95.76%; 94.92% respectively. There was a significant difference between 1:1.00 and 1:0.50 group ratio. The conclusion was that the cytotoxicity between 1:1.00 and 1:0.50 powder and liquid ratio of cyanoacrylate restoration materials in this study decreased.

**Key words:** cytotoxicity, cyanoacrylate restoration material, powder and liquid ratio, MTT assay

Korespondensi (correspondence): Asti Meizarini, Bagian Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jln. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 47 Surabaya 60132, Indonesia.

## PENDAHULUAN

Bahan restorasi *cyanoacrylate* adalah bahan kedokteran gigi yang indikasinya dapat dipakai untuk berbagai macam kegunaan dalam bidang restorasi, antara lain untuk menumpat, memperbaiki *facing* porselen yang pecah, *vener*, *splinting* gigi geligi. Bahan restorasi *cyanoacrylate* terdiri dari campuran *powder polymethyl methacrylate* dan *liquid cyanoacrylate* ditambah aselerator *methyl methacrylate* untuk mengeraskan. Waktu prosesing sangat tergantung pada jumlah *powder* yang digunakan. Jumlah *powder* yang dicampur ke *liquid* dikatakan tidak berpengaruh pada kekerasan akhir. Kontra indikasi dan kelainan yang ditimbulkan belum diketahui.<sup>1</sup> Perbandingan takaran *powder* dan *liquid* tidak disebutkan.

*Powder* dan aselerator pada bahan restorasi *cyanoacrylate* mempunyai kandungan yang sama dengan bahan restorasi resin akrilik. Resin akrilik sebagai bahan restorasi adalah hasil polimerisasi dari *powder polymethyl methacrylate* dan cairan monomer *methyl methacrylate*. Di bidang kedokteran gigi, pemakaian restorasi resin akrilik secara *direct* jenis ini telah ditinggalkan, karena mempunyai banyak kekurangan diantaranya efek monomer sisa dan terjadi penyusutan yang besar oleh

karena proses polimerisasi.<sup>2</sup> *Methyl methacrylate* dapat juga mengiritasi pulpa dengan cara berdifusi melalui tubuli dentin.<sup>3</sup>

*Cyanoacrylate* dapat juga digunakan sebagai *tissue adhesive* (pelekat jaringan). Adanya air atau cairan tubuh menyebabkan *ethyl-2-cyanoacrylate* berpolimerisasi dengan cepat membentuk lapisan tipis yang dapat melekatkan tepi jaringan atau kulit dengan erat, 2 menit setelah *setting*. Empat alasan penunjang dipakainya bahan *ethyl-2-cyanoacrylate* sebagai pelekat jaringan, adalah karena mempunyai efek hemostatik baik, bakteriostatik dan sebagai bakterisidal, kemampuan polimer melekat dengan erat pada jaringan hidup dan mendapatkan estetik yang baik selama proses penyembuhan luka.<sup>4</sup> Sebaliknya, ada pendapat lain yang menyebutkan bahwa penggunaan *cyanoacrylate* terbatas karena dapat menyebabkan degradasi dalam sistem biologis dan terjadi iritasi lokal.<sup>5</sup> *Ethyl-2-cyanoacrylate* bila kontak dengan alkohol, *amine* atau air dapat menyebabkan polimerisasi dan hasil degradasinya termasuk *formaldehyde*, dekomposisi termalnya dapat termasuk *hydrogen cyanide*, oksida dari karbon dan nitrogen.<sup>6</sup>

Salah satu syarat bahan yang digunakan dalam bidang kedokteran gigi seharusnya tidak toksik, tidak mengiritasi

dan harus mempunyai sifat biokompatibilitas atau bahan yang diproduksi tidak boleh mempunyai efek yang merugikan terhadap lingkungan biologis, baik lokal maupun sistemik.<sup>7</sup> Uji sitotoksisitas adalah bagian dari evaluasi bahan kedokteran gigi dan diperlukan untuk prosedur *screening standart*. Salah satu metode untuk menilai sitotoksisitas suatu bahan adalah dengan uji enzimatik menggunakan pereaksi *3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)*.<sup>8</sup> Dasar uji enzimatik *MTT* adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Uji ini banyak digunakan untuk mengukur proliferasi seluler secara kuantitatif atau untuk mengukur jumlah sel yang hidup.

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka timbul permasalahan apakah pemakaian perbandingan takaran *powder* dan *liquid* bahan restorasi *cyanoacrylate* yang berbeda akan mempunyai efek sitotoksisitas yang berbeda pula bila diuji menggunakan uji *MTT (MTT assay)*.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui sitotoksisitas bahan restorasi *cyanoacrylate* akibat perbedaan perbandingan takaran *powder* dan *liquid* dengan menggunakan *MTT assay*. Manfaatnya untuk memberi informasi ilmiah kepada dokter gigi dan masyarakat mengenai sitotoksisitas bahan restorasi *cyanoacrylate*, khususnya pengaruh jumlah *powder* dan *liquid* bahan *cyanoacrylate* yang digunakan terhadap sitotoksisitasnya, karena tidak adanya perbandingan atau takaran *powder* dan *liquid* yang jelas, dikhawatirkan menyebabkan bahan restorasi menjadi toksik.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian eksperimental laboratoris, rancangan penelitian *post test only controle group*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Imunokimia Bioteknologi, Pusat Antar Universitas, Universitas Gajah Mada Yogyakarta pada bulan Agustus- September tahun 2004.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bahan restorasi *cyanoacrylate* merek *Cyano Veneer* (Meyer-Haake-Germany) terdiri dari *powder* berisi *polymethylmethacrylate*; *Fast/Retarder* berisi *ethyl-2-cyanoacrylate*; *Quick* berisi *methylmethacrylate*, *ethylen glycoldimethacrylate* dan *N,N-dimethyl-p-toluidin* (brosur), alkohol 70%, kultur *cell line Baby Hamster Kidney (BHK-21)*, media kultur berisi *Rosewell Park Memorial Institute-1640 (RPMI-1640)* 89%; *Penstrep* 1%; *Fetal Bovine Serum (FBS)* 10%; *Fungizone* 100 unit/ml, pereaksi *MTT*, *Phosphat Buffer Saline (PBS)*, dan *Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)*. Alat yang digunakan adalah plat kuningan untuk fiksasi, cetakan sampel diameter dalam 5 mm dan tinggi 2 mm, *stop watch*, timbangan digital, kuas, semen *stopper*, *sonde*, pisau model, *plastic filling instrument*, *matrix strips*, anak timbangan 500 gr, filter *millipore* 0,2 mm, *flask*, *ependorf*, *microplate*, pipet mikro, pipet *Pasteur*, spektrofotometer.

Pembuatan sampel adalah sebagai berikut, cetakan sampel berbentuk silinder, diameter dalam 5 mm dan tebal 2 mm,<sup>9</sup> terbuat dari teflon, di fiksasi dengan plat kuningan. Daerah kerja dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian dikeringkan. Bagian dasar daerah kerja di ulas selapis tipis *Fast* menggunakan kuas. *Powder* dicampur *Fast* dengan perbandingan takaran sesuai dengan kelompok masing-masing 1 : 1,00; 1 : 0,75; 1 : 0,50. Bahan campuran di aplikasikan ke dalam cetakan sampel dengan *plastic filling instrument*. Bagian atas cetakan diberi *matrix strips*, ditekan dengan plat kuningan yang diberi beban seberat 500 gr selama 30 detik. Beban, plat dan *matrix* diambil, setelah itu diberi setetes aselerator *Quick*, kemudian diulas 1 lapis *Fast*. Setelah sampel mengeras dilepas dari cetakan, sehingga diperoleh sampel berbentuk silinder. Untuk setiap kelompok dipakai 6 sampel.

Tahap pengujian sampel dilakukan dengan cara memasukkan sampel ke dalam *ependorf* yang berisi media kultur 200  $\mu$ l, direndam selama 24 jam dalam suhu ruang dan dikelompokkan sesuai dengan kelompok sampel. Setelah 24 jam, sampel diambil, dilakukan sterilisasi bahan perendam dengan filter *millipore* ukuran 0,2 mm.<sup>10</sup> Hasil filter ditampung dalam *ependorf*, siap digunakan untuk uji sitotoksisitas.<sup>11</sup>

Kultur sel *BHK-21* dipersiapkan sesuai petunjuk pada laboratorium Biotek-PAU dan *microplate* dengan 96 sumuran. Setiap sumuran pada *microplate* diisi 100  $\mu$ l sel dengan kepadatan  $2 \times 10^5$ . Larutan bekas perendaman sampel *cyanoacrylate* yang telah di filter, ditambahkan ke dalam tiap sumuran sebanyak 50  $\mu$ l, sesuai dengan kelompok sampel. Disiapkan pula kontrol sel sebagai kontrol positif berisi sel dalam media kultur, dianggap persentase sel hidup 100% dan kontrol media sebagai kontrol negatif berisi media kultur saja, dianggap persentase sel hidup 0%. *Microplate* di inkubasi 20 jam pada suhu 37° C, kemudian dikeluarkan dari alat inkubator, ditambahkan pereaksi *MTT* 5 mg/ml dalam *PBS* sebanyak 25  $\mu$ l untuk setiap sumuran. Di inkubasi kembali selama 4 jam. Setelah inkubasi selesai ditambahkan larutan *SDS* 10% sebanyak 80  $\mu$ l pada setiap sumuran. Tahap selanjutnya di sentrifuse 30 rpm selama 5 menit. Nilai densitas optik *formazan* di hitung dengan spektrofotometer panjang gelombang 540 nm.<sup>8,12</sup> Untuk mengetahui persentase jumlah sel hidup dilakukan dengan memakai rumus:<sup>13</sup>

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{perlakuan} + \text{media}}{\text{sel} + \text{media}} \times 100\%$$

Keterangan:

- % sel hidup = persentase jumlah sel hidup setelah pengujian
- perlakuan = nilai densitas optik *formazan* pada setiap sampel setelah pengujian
- media = nilai densitas optik *formazan* pada kontrol media
- sel = nilai densitas optik *formazan* pada kontrol sel

Data yang diperoleh ditabulasi, kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan *ANOVA* satu arah dengan taraf kemaknaan 5% dan dilanjutkan dengan *Tukey High Significant Difference (HSD)*.

#### HASIL

Nilai rerata densitas optik *formazan*, standart deviasi, persentase sel hidup bahan restorasi *cyanoacrylate* dapat dilihat pada tabel 1.

Tampak bahwa pada kelompok perlakuan, menunjukkan rerata nilai densitas optik *formazan* bahan restorasi *cyanoacrylate* yang semakin menurun sesuai dengan berkurangnya jumlah *Fast (ethyl-2-cyanoacrylate)*. Persentase sel hidup, yaitu persentase

densitas optik enzim mitokondrial dehidrogenase pada kultul sel *BHK-21* juga terjadi penurunan. Probabilitas normalitas pada *Kolmogorov Smirnov Test* menunjukkan semua kelompok mempunyai distribusi normal, karena didapatkan probabilitas normalitas lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ).

Setelah diketahui semua kelompok mempunyai distribusi normal, maka untuk mengetahui adanya perbedaan, dilakukan uji parametrik *ANOVA* satu arah dengan taraf kemaknaan 0,05%. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 2.

Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bermakna, maka dilakukan uji *HSD* pada  $\alpha = 0,05$  yang dapat dilihat pada tabel 3. Kelompok perlakuan yang bermakna adalah yang mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ).

**Tabel 1.** Nilai rerata densitas optik *formazan*, standart deviasi, persentase sel hidup dari uji toksisitas bahan restorasi *cyanoacrylate* dan probabilitas normalitas

Rasio <i>Powder:Fast</i>	Jumlah sampel	Rerata densitas optik <i>formazan</i>	Standart deviasi	% Sel hidup	Probabilitas normalitas
Kelompok I <i>P:F 1 : 1,00</i>	6	0,267	0,005	98,59%	0,408
Kelompok II <i>P:F 1 : 0,75</i>	6	0,257	0,003	95,76%	0,408
Kelompok III <i>P:F 1 : 0,50</i>	6	0,254	0,009	94,92%	0,613
Kontrol Sel (+)	6	0,272	0,009	100%	0,436
Kontrol Media (-)	6	0,082	0,002	0%	0,746

**Tabel 2.** *ANOVA* satu arah dari uji toksisitas bahan restorasi *cyanoacrylate*

Sumber variasi	Jumlah kuadrat	derajat bebas	Rerata kuadrat	F hitung	Probabilitas
Antar kelompok	0,157	4	0,03934	971,128	0,001
Dalam kelompok	0,001013	25	0,00004051		
Total	0,158	29			

**Tabel 3.** Uji *HSD* persentase sel hidup antar kelompok perlakuan dan kontrol sel

	Kontrol sel	Kelompok I <i>P:F 1 : 1,00</i>	Kelompok II <i>P:F 1 : 0,75</i>	Kelompok III <i>P:F 1 : 0,50</i>
Kontrol sel	---			
Kelompok I <i>P:F 1 : 1,00</i>	TB (0,657)	---		
Kelompok II <i>P:F 1 : 0,75</i>	B	TB (0,079)	---	
Kelompok III <i>P:F 1 : 0,50</i>	B	B	TB (0,923)	---

Keterangan : B = Bermakna  
TB = Tidak Bermakna

Dari hasil uji *HSD* terlihat ada perbedaan persentase jumlah sel hidup antara kelompok I dengan III dan antara kelompok kontrol sel dengan kelompok II dan III.

## PEMBAHASAN

*Cyanoacrylate* yang terkandung dalam bahan restorasi *Cyano Veneer* adalah *ethyl-2-cyanoacrylate*. Pemakaian bahan restorasi *Cyano Veneer* merupakan kombinasi antara *polymethyl methacrylate (powder)* dengan *ethyl-2-cyanoacrylate (Fast)*, kemudian diulas cairan *methyl methacrylate (Quick)* dan terakhir ulasan *ethyl-2-cyanoacrylate (Fast)* lagi.<sup>1</sup> Pada pencampuran *polymethyl methacrylate* dengan *cyanoacrylate* terjadi kopolimerisasi, setelah monomer *methyl methacrylate* diulas pada permukaannya baru terjadi polimerisasi.<sup>14</sup> Pengaplikasian cairan *Quick* yang mengandung monomer *methyl methacrylate* di atas campuran *polymethyl methacrylate* dengan *ethyl-2-cyanoacrylate* menimbulkan keraguan, apakah tidak ada reaksi lanjutan monomer yang bersifat toksik. Salah satu persyaratan bahan kedokteran gigi untuk dapat diaplikasikan pada rongga mulut, harus bersifat biokompatibel, antara lain tidak mengandung substansi toksik.<sup>2,7</sup> Untuk membuktikannya, maka dilakukan uji sitotoksisitas secara *in vitro* pada kultur sel *BHK-21* menggunakan *MTT assay*. Kultur *cell lines* digunakan karena mempunyai keuntungan, yaitu pasase dapat dilakukan 50–70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi. *Cell lines* telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas bahan dan obat-obatan di bidang kedokteran gigi, antara lain sel *BHK-21* yang berasal dari fibroblas ginjal bayi *hamster*. Sel fibroblas merupakan sel terpenting pada komponen pulpa, ligamen periodontal dan gingiva.<sup>8,15</sup> Hasil uji dengan menggunakan *BHK-21* dapat dipakai sebagai dasar pengujian yang akurat.<sup>16</sup> *MTT* adalah molekul larut berwarna kuning, yang dapat digunakan untuk menilai aktifitas enzimatis selular, didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam *MTT*. Mekanismenya adalah garam tetrazolium berwarna kuning tersebut akan direduksi di dalam sel yang mempunyai aktifitas metabolik. Mitokondria dari sel hidup yang berperan penting dalam hal ini, adalah yang menghasilkan dehidrogenase. Bila dehidrogenase tidak aktif karena efek sitotoksik, maka *formazan* tidak akan terbentuk. Jumlah *formazan* yang terbentuk, proporsional dengan aktifitas enzimatis sel hidup.<sup>13,17</sup>

Perbandingan takaran *powder* dan *liquid* bahan restorasi *cyanoacrylate* yang dipakai dalam penelitian ini, didapatkan sesuai hasil penelitian pendahuluan dengan kriteria konsistensi hasil pengadukan *polymethyl methacrylate* dengan *cyanoacrylate* cukup kental dan punya kemampuan mengalir, sehingga dapat diaplikasikan ke kavitas dengan baik.<sup>14</sup>

Berdasarkan tabel 2, adanya perbedaan persentase jumlah sel hidup antara kelompok I dengan III, antara

kelompok kontrol sel dengan kelompok II dan III, kemungkinan disebabkan karena kopolimerisasi tidak sempurna. Pada kelompok I jumlah *powder* dan *liquid Fast* sama banyak, *ethyl-2-cyanoacrylate (liquid Fast)* sebagai bahan adesif, dapat membasahi dan mengikat *polymethyl methacrylate (powder)* dengan baik, ditandai dengan pengadukan campuran ini cukup mudah dan cepat homogen. Pada kelompok II dan III, semakin sedikit jumlah *ethyl-2-cyanoacrylate* yang dipakai, sedang jumlah *polymethyl methacrylate* sama banyak dengan kelompok I, kemungkinan menyebabkan *liquid ethyl-2-cyanoacrylate* tidak dapat mengikat semua *powder polymethyl methacrylate* yang ada. Hal ini dapat dilihat pada pengadukan campuran *powder* dan *liquid Fast* perbandingan 1:0,50 lebih sulit homogen dan hasil campuran lebih kental. Pengaplikasian cairan *Quick* yang mengandung monomer *methyl methacrylate* di atas campuran *polymethyl methacrylate* yang tidak terikat sempurna, kemungkinan menyebabkan terjadinya polimerisasi tersendiri antara *polymethyl methacrylate* dengan monomer *methyl methacrylate*. Seperti telah diketahui bahwa polimerisasi *polymethyl methacrylate* dan monomer *methyl methacrylate* merupakan suatu proses yang pada kenyataan tidak pernah dapat berlangsung sempurna, sehingga pada akhir polimerisasi selalu terdapat sejumlah monomer yang tidak bereaksi menjadi polimer. Monomer sisa selalu ada pada resin yang mengandung *polymethyl methacrylate* dan *methyl methacrylate*.<sup>2</sup>

Aplikasi selanjutnya, ulasan 1 lapis *Fast* yang mengandung *ethyl-2-cyanoacrylate* sebagai bahan pengisi dan peneras, kemungkinan hal ini yang dapat menghambat bila ada pelepasan monomer ke permukaan restorasi, sesuai dengan pendapat yang menyatakan *ethyl-2-cyanoacrylate* ( $C_6H_7NO_2$ ) bereaksi cepat dengan air membentuk polimer padat.<sup>6</sup> Namun meskipun hasil akhir sampel diulas *ethyl-2-cyanoacrylate*, sehingga bila ada monomer sisa, akan tertutup *ethyl-2-cyanoacrylate*, ternyata pada hasil penelitian ada perbedaan nilai densitas optik *formazan* yang cenderung menurun sesuai dengan penurunan jumlah *ethyl-2-cyanoacrylate* pada campuran *powder* dan *liquid Fast*. Hal ini kemungkinan dapat terjadi disebabkan (*poly*)*methyl methacrylate* yang tidak bereaksi sempurna masih bisa menyerap air melalui proses imbibisi,<sup>2</sup> sehingga merembes ke permukaan dan menyebabkan kematian sejumlah sel, meskipun tidak banyak.

Hasil penelitian ini didapatkan sel hidup kelompok I = 98,59%, kelompok II = 95,76%, kelompok III = 94,9%. Hasil uji *ANOVA* didapatkan  $p < 0,05$  berarti ada perbedaan bermakna yang disebabkan variasi perbandingan takaran *powder* dan *liquid* bahan restorasi *cyanoacrylate*. Persentase jumlah sel hidup semua kelompok masih mendekati 100%, yang berarti restorasi *cyanoacrylate* belum dapat dikatakan toksik, karena masih di atas patokan toksisitas atau biokompatibilitas sesuai dengan pendapat Telli *et al.*<sup>11</sup> dan Rubianto<sup>16</sup> yang dipakai untuk penelitian ini. Rubianto<sup>16</sup> menggunakan patokan biokompatibilitas

yang baik adalah jumlah sel hidup 92,3%–100%. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan patokan Telli *et al.*<sup>11</sup> yang pada penelitiannya menyatakan bahwa parameter toksisitas berdasarkan  $CD_{50}$ , artinya suatu bahan dikatakan toksik apabila persentase sel hidup setelah terpapar bahan tersebut, kurang dari 50%. Masih banyaknya sel hidup dalam penelitian ini, dapat juga disebabkan karena *ethyl-2-cyanoacrylate* tidak mengalami degradasi atau dekomposisi termal. Pendapat yang menyatakan bahwa bahan *ethyl-2-cyanoacrylate* cukup aman,<sup>4</sup> dalam penelitian ini terbukti, meskipun dalam penelitiannya dipakai *ethyl-2-cyanoacrylate* dalam bentuk cairan sebagai bahan adesif jaringan dan tidak dicampur dengan (*poly*)*methyl methacrylate*.

Kesimpulannya ada penurunan sitotoksitas pada restorasi *cyanoacrylate* dalam penelitian ini antara perbandingan takaran *powder* dan *liquid* 1 : 1,00 dengan 1 : 0,50.

Uji sitotoksitas adalah uji awal untuk biokompatibilitas suatu bahan. Untuk memastikan toksisitas bahan restorasi *cyanoacrylate*, disarankan penelitian lebih lanjut mengingat banyak faktor yang harus dipertimbangkan pada pemakaian bahan di dalam mulut, misalnya perbedaan keasaman makanan dan minuman yang dikonsumsi sehari-hari dan juga uji lanjutan untuk mengetahui efek biokompatibilitas secara keseluruhan.

---

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini ucapan terima kasih disampaikan kepada Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga yang telah memberikan dana DIK Suplemen tahun 2004 Universitas Airlangga untuk penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Compendium Cyano Veneer. Application examples and processing instructions. Meyer-Haake MEDIZIN-UND DENTALHANDELS GMBH. Brosur.
2. Anusavice KJ. Science of dental materials. 11<sup>st</sup> ed. Elsevier Science USA Saunders; 2003. p. 166, 171–4, 400, 734–5.
3. O'Brien WJ dan Ryge G. An outline of dental materials and their selection. Philadelphia: WB Saunders Co; 1978. p. 78–9, 83, 86, 89, 94.
4. Lehmann RR. Ethyl-2-Cyanoacrylate as a tissue adhesive for external use. Universität Münster. D-48129 Münster. E-mail:lehmr@uni-muenster.de,dr.r.r.lehmann@t-online.de. 1997. Accessed Augustus 27, 1997.
5. American Dental Association (ADA). Dentist's desk reference: materials, instruments and equipment. 2<sup>nd</sup> ed. Chicago: American Dental Association; 1983. p. 116, 122.
6. Concise International Chemical Assesment (CICAD) Document 36. 2001. Methyl-ethyl cyanoacrylate. (online). Available from: [http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad\\_36.htm](http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad_36.htm). Accessed April 21, 2003.
7. Van Noort R. Introduction to dental material. 2<sup>nd</sup> ed. London: CV Mosby Company; 2003. p. 3–5.
8. Fazwishni S dan Hadijono BS. Uji sitotoksitas dengan esei MTT. JKGUI. 2000; 7: 28–32.
9. Marais JT, Dann Heimer MF, Germis HPI, Borman JW. Dept of cured of light cured composite resin with light curing units of difference intensity. J Dent Assoc 1997; 52: 403–7.
10. Maat S. Sterilisasi dan disinfeksi. Ceramah sehari penyucihamaan (sterilisasi) sarana pelayanan kesehatan. Patologi Klinik RSUD Dr.Soetomo Surabaya, 2001; h. 14.
11. Telli C, Serper A, Dogan AL, Guc D. Evaluation of the cytotoxicity of calcium phosphate root canal sealers by MTT assay. J Endodon 1999; 25: 811–3.
12. Kasugai S, Hasegawa N and Ogura H. Application of the MTT colorimetric assay to measure cytotoxic effect of phenolic compound on established rat pulp cells. J Dent Res 1991; 70: 127–30.
13. Titien HA. Pengaruh tegangan listrik dan lama penyinaran pada semen ionomeri gelas modifikasi resin terhadap kekerasan permukaan dan sitotoksis. Tesis. Surabaya: Pasca Sarjana Universitas Airlangga; 2002.
14. Neihart TR. Cyanoacrylate Veneer Facing: An alternate approach. J Prosthet Dent 1984; 56: 777–9.
15. Freshney, RI. Culture of animal cells. A manual of basic technique. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Alan R Liss Inc; 1987. p. 9, 71, 128, 239.
16. Rubianto M. Biokompatibilitas bahan allograft (human bone powder) dibandingkan dengan bahan alloplast (hydroxylapatite). Kumpulan naskah Temu Ilmiah Nasional I (TIMNAS I) FKG UNAIR, 1998; h. 507–9.
17. Craig RG, Powers JM. Restorative dental materials. 6<sup>th</sup> ed. London: Mosby Co; 2002. p. 135–40.