

PERBEDAAN KONSENTRASI BAHAN PEMUTIH GIGI
TERHADAP SITOTOKSISITAS MENGGUNAKAN
ESEI MTT

*THE DIFFERENCES CONCENTRATION OF TOOTH WHITENING
MATERIAL TOWARD CYTOTOXICITY USING MTT ASSAY*

Asti Meizarini⁽¹⁾

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the cytotoxicity of several tooth whitening material, carbamide peroxide 10%, 15%, 20% and hydrogen peroxide 38% toward BHK-21 cell using MTT assay.

Each well of microplates which used for the test were aliquotted BHK-21 cell suspension, after that the test solution were added to eight well each group, respectively. Microplates were incubated at 37°C in 5% CO₂ incubator for 20 hour. MTT stock was added to each well, incubate again for 4 hours, after that DMSO was added. The microplate were detected using ELISA reader at 630 nm. The cytotoxicity was evaluated by the 50% cytotoxic dose (CD₅₀), which was determined by calculating the proliferation percentages of cells treated with various concentrations of tooth whitening gel, and comparing the results with that of the positive and the negative control.

The result showed that percentages of the living cell at 10% carbamide peroxide group = 86,73%; 15% = 81,22%; 20% = 81,82%; 38% hidrogen peroksida = 64,08%, respectively. Anova test and LSD showed no significant difference between 10%, 15%, 20% groups, but there are significant toward 38% group and controle. The 38% hydrogen peroxide group is expectable to be more cytotoxic than those containing 10% carbamide peroxide. which is equivalent to 3.6% hidrogen peroxide. Hydrogen peroxide releases oxygen. Exposure to higher concentrations of hydrogen peroxide can increased the oxidative reactions and damages by free radicals. The oxidative reactions and subsequent damage in cells are the major mechanisms responsible for the toxicity of peroxide compounds.

Conclusion. The 10%, 15%, 20% carbamide peroxide and 38% hydrogen peroxide tooth whitening agents conclusion were not detected cytotoxic toward BHK-21 cell line using MTT assay within CD₅₀.

Keywords: *cytotoxicity, tooth whitening material, MTT assay*

⁽¹⁾ Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

PENDAHULUAN

Prosedur untuk pemutihan gigi ada berbagai macam cara. Pemutihan gigi dapat dikerjakan di klinik oleh dokter gigi secara langsung atau dilakukan di rumah dengan pantauan dokter gigi. Kandungan utama bahan pemutih gigi tergantung dari produsen pembuatnya, hidrogen peroksida, karbamid peroksida atau urea peroksida, atau sistim non hidrogen peroksida yang mengandung sodium klorida, oksigen dan natrium fluorida. Konsentrasi bahan pemutih gigi bermacam-macam tergantung kegunaan, di rumah atau di klinik. Bahan pemutih gigi yang sering digunakan di rumah bervariasi konsentrasinya antara 10, 15 dan 20% karbamid peroksida. Bahan pemutih gigi hidrogen peroksida untuk penggunaan di klinik biasanya menggunakan konsentrasi 35% atau lebih.

ADA (2005) menyebutkan pemakaian bahan pemutih yang mengandung karbamid peroksida 10% aman dan efektif untuk penggunaan di rumah. Bahan dasar pemutih gigi karbamid peroksida 10% terdiri dari 3,6% hidrogen peroksida (SCCP, 2005) dan urea. Hidrogen peroksida menjadi bahan aktif pemutih gigi. Urea dalam karbamid peroksida berperan sebagai stabilisator untuk memperpanjang *shelf life* dan memperlambat pelepasan hidrogen peroksida (O'Brien, 2002). Kandungan lain dalam bahan pemutih peroksida adalah gliserin, karbopol, sodium hidroksida dan bahan perasa. Bahan pemutih gigi profesional yang diijinkan oleh ADA adalah 35% hidrogen peroksida, penggunaannya memerlukan isolasi jaringan ginggiva dengan *rubber dam* atau gel pelindung. Beberapa produk mengandung bahan tambahan potasium nitrat dan ion fluorida untuk membantu mengurangi

sensitivitas gigi (Hatrack, 2003 dan Matis, 2004).

Secara umum efek samping penggunaan bahan pemutih gigi, menyebabkan gigi sensitif dan iritasi ginggiva (ADA, 2005). Aplikasi bahan pemutih gigi harus diusahakan tidak kontak dengan mukosa membran rongga mulut terutama ginggiva, tetapi hal tersebut sulit dihindarkan, oleh sebab itu perlu memastikan bahan pemutih gigi tidak toksik. Tidak ada alat atau bahan kedokteran gigi yang sepenuhnya aman, termasuk bahan pemutih gigi. Pemilihan dan penggunaan alat atau bahan kedokteran gigi didasarkan asumsi bahwa keuntungan penggunaan jauh melebihi efek biologis yang merugikan. Uji sitotoksitas adalah bagian dari evaluasi bahan kedokteran gigi dan diperlukan untuk prosedur skrining standar. Tujuan uji ini untuk mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. *Cell lines* telah banyak digunakan untuk menguji toksitas berbagai bahan dan obat-obatan di bidang kedokteran gigi, antara lain sel *Baby Hamster Kidney-21* (BHK-21). Salah satu metode untuk menilai sitotoksitas suatu bahan adalah esei tetrazolium *MTT* (Fazwishni dan Hadijono, 2000).

Uraian pada latar belakang masalah di atas menimbulkan permasalahan: Apakah perbedaan konsentrasi bahan pemutih gigi karbamid peroksida 10%, 15%, 20% dan hidrogen peroksida 38% berpengaruh terhadap sitotoksitas sel BHK-21 dengan menggunakan esei *MTT*. Sejauh ini efek berbagai konsentrasi bahan pemutih gigi terhadap sitotoksitas pada sel BHK-21 dengan menggunakan esei *MTT* belum diketahui.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui sitotoksitas bahan pemutih gigi karbamid peroksida 10%, 15%, 20% dan hidrogen peroksida

38% terhadap sel *BHK-21* menggunakan esei *MTT*. Manfaatnya sebagai bahan pertimbangan dalam memilih bahan pemutih gigi yang tidak sitotoksik dan memberi informasi ilmiah kepada dokter gigi tentang variasi konsentrasi bahan pemutih gigi serta sitotoksisitasnya menggunakan esei *MTT*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian experimental laboratoris, rancangan penelitian *Post test only controle group*. Subyek penelitian bahan pemutih gigi karbamid peroksida 10%, 15%, 20% dan hidrogen peroksida 38%. Lokasi penelitian Laboratorium Pengendalian Mutu Peningkatan Produksi – Pusat Veterinaria Farma Surabaya.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah karbamid peroksida merek Opalescence PF 10%, 15%, 20% (Ultradent-USA), hidrogen peroksida merek Opalescence Xtra Boost 38% (Ultradent-USA), kultur *cell line BHK-21* pasase 60 (Pusvetma-Surabaya), media kultur *Eagle's minimum essential medium (MEM)* yang diperkaya dengan *Fetal Bovine Serum (FBS)* 10%, glutamin, asam amino, vitamin, *Kanamycin-Streptomycin – Penicillin – Fungizone* (Pusvetma- Surabaya), pereaksi *MTT* (Sigma Aldrich-Germany), alkohol 70%, *phosphat buffer saline, dimethyl-sulfoxide* (BDH-England). Alat yang digunakan adalah *laminar flow* (Oliphant-Australia), filter *millipore Minisart* 0,20 μm dan 0,45 μm (Sartorius), *flask Nunc*, *microplate* 96 well *Nunc* (Nuncclon-Denmark), pipet mikro, pipet *Pasteur*, inkubator 5% CO_2 , *shaker Vari Shaker* (Dynatech-England), *Elisa reader Opsysmr* (Dynex-USA).

Cara kerja penelitian adalah sebagai berikut. Kelompok I menggunakan bahan uji gel karbamid peroksida konsentrasi 10%. Kelompok II menggunakan bahan uji gel

karbamid peroksida konsentrasi 15%. Kelompok III menggunakan bahan uji gel karbamid peroksida konsentrasi 20%. Kelompok IV menggunakan bahan uji gel hidrogen peroksida konsentrasi 38%. Setiap kelompok menggunakan 10 mg bahan uji yang dilarutkan dalam 50 ml *PBS* sesuai dengan perbandingan bahan uji yang dipakai Li *et al.*, (2000). Besar sampel setiap kelompok 8 buah, jumlah seluruhnya 32 sampel. Disiapkan kultur sel fibroblas *BHK-21* dengan kepadatan $2,4 \times 10^4$ sel/ml dalam media kultur *Eagle's MEM*, *microplate* dengan 96 well (sumuran) steril dan bekerja di dalam *laminar flow*. Sumuran pada *microplate* diisi sel fibroblas sebanyak 100 μl . setiap sumuran. Bahan uji sampel yang telah dilarutkan dengan *PBS*, di filter menggunakan *millipore* 0,45 μm , kemudian ditambahkan ke dalam tiap sumuran sebanyak 20 μl , sesuai dengan kelompok sampel. Disiapkan pula kontrol sel dan kontrol media. Kontrol sel adalah tiap sumuran berisi sel fibroblas *BHK-21* dalam media kultur *Eagle's* sebagai kontrol positif, dilakukan 8 kali pengulangan. Kontrol media adalah tiap sumuran yang berisi media kultur *Eagle's* saja sebagai kontrol negatif, dilakukan 8 kali pengulangan. *Microplate* dimasukkan ke dalam inkubator 5% CO_2 suhu 37 °C selama 20 jam. *MTT* 5 mg/ml dalam *PBS*, disiapkan dan di filter menggunakan *millipore* 0,20 μm . *Microplate* dikeluarkan dari inkubator. Media di dalam sumuran dikeluarkan menggunakan *syringe*, sel melekat di dinding dalam sumuran. Pereaksi *MTT* ditambahkan sebanyak 10 μl untuk setiap sumuran (Li *et al.*, 2000), kemudian di inkubasi kembali selama 4 jam. Total waktu inkubasi dalam inkubator 37 °C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi selesai, *MTT* pada *microplate* dikeluarkan menggunakan *syringe*, kemudian ditambahkan larutan *DMSO* sebanyak

50 µl tiap sumuran untuk menghentikan produk metabolik *MTT*. *Microplate* di *shaker* selama 5 menit (Lazo Lab, 2006). Nilai densitas optik *formazan* di deteksi dengan *ELISA reader* panjang gelombang 630 nm (Park, 2006).

Untuk mengetahui prosentase jumlah sel hidup dilakukan dengan memakai rumus:

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

(Titien, 2002)

Data yang diperoleh ditabulasi, kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan *Anova* satu arah dengan taraf kemaknaan 5% dan dilanjutkan dengan *Least Significant Difference (LSD)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu persyaratan bahan kedokteran gigi untuk dapat diaplikasikan pada rongga mulut, harus bersifat biokompatibel, antara lain tidak mengandung substansi toksik (Anusavice, 2003). Untuk membuktikannya, maka dilakukan uji sitotoksitas secara *in vitro* pada kultur sel *BHK-21* menggunakan *MTT assay*. Penggunaan kultur sel *BHK-21* yang berasal dari fibroblas ginjal bayi *hamster*, disebabkan karena sel

fibroblas merupakan sel terpenting dan komponen terbesar dari pulpa, ligamen periodontal dan gingiva (Freshney, 1987). Rubianto (1998) menyatakan hasil uji dengan menggunakan *BHK-21* tetap dapat dipakai sebagai dasar pengujian yang akurat. *MTT assay* didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam *MTT*. Prinsip *assay* ini adalah pemecahan cincin tetrazolium *MTT* oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk *formazan* biru keunguan yang tidak larut. 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 (Kasugai et al, 1991). Produksi *formazan* dapat dihitung dengan melarutkannya dan mengukur densitas optik dari larutan yang dihasilkan (Craig dan Powers, 2002). Nilai densitas optik *formazan* beberapa bahan pemutih gigi dengan konsentrasi berbeda diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 630 nm dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Rerata Densitas Optik *formazan* Bahan Pemutih Gigi, Simpang Baku dan Persentase Sel Hidup

Bahan pemutih gigi	Kel I KP 10%	Kel II KP 15%	Kel III KP 20%	Kel IV HP 38%	Kontrol Sel	Kontrol Media
Jumlah sampel	8	8	8	8	8	8
Rerata densitas optik <i>formazan</i>	0,151	0,138	0,139	0,099	0,181	0,048
Simpang baku	0,011	0,012	0,016	0,017	0,013	0,004
% Sel hidup	86,73	81,22	81,82	64,08	0	100

Tabel 1, memperlihatkan rerata nilai densitas optik *formazan* pada

kelompok IV yang menggunakan hidrogen peroksida 38% paling rendah

dibandingkan kelompok yang menggunakan karbamid peroksida 10%, 15%, 20% (kelompok I, II dan III). Kelompok III yang menggunakan karbamid peroksida 20% bila dibandingkan kelompok II (15%), tidak tampak adanya penurunan nilai densitas optik *formazan*. Persentase sel hidup paling rendah, yaitu persentase densitas optik ensim mitokondrial dehidrogenase pada kultur sel *BHK-21* kelompok yang menggunakan hidrogen peroksida 38%. Persentase sel hidup paling tinggi pada kelompok I yang menggunakan karbamid peroksida 10%.

Sebelum dilakukan uji untuk menganalisis hasil densitas optik *formazan* antar kelompok, maka dilakukan dulu pengujian distribusi dan homogenitas sampel. Probabilitas normalitas pada *Kolmogorov Smirnov Test* didapatkan $p = 0,204$

menunjukkan semua kelompok mempunyai distribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas varians dengan Levene didapatkan $p=0,139$ menunjukkan semua kelompok homogen ($p > 0,05$).

Setelah diketahui semua kelompok mempunyai distribusi normal dan homogen, maka untuk mengetahui adanya perbedaan nilai densitas optik *formazan* dilakukan uji parametrik *Anova* satu arah dengan taraf kemaknaan 5%. Probabilitas yang didapatkan 0,000 ($p<0,05$), maka berarti ada perbedaan yang bermakna antar kelompok yang diuji.

Untuk menentukan perbedaan kemaknaan antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, dilakukan uji *LSD* pada $\alpha = 0,05$ yang dapat dilihat pada tabel 2. Kelompok perlakuan yang bermakna adalah yang mempunyai signifikansi kurang dari 0,05 ($p<0,05$).

Tabel 2. Uji *LSD* Antar Perlakuan dan Kontrol

Kelompok	Kel I KP 10%	Kel II KP 15%	Kel III KP 20%	Kel IV HP 38%	Kontrol sel	Kontrol media
Kel I - KP 10%	-	TB	TB	B	B	B
Kel II - KP 15%		-	TB	B	B	B
Kel III - KP 20%			-	B	B	B
Kel IV - HP 38%				-	B	B
Kontrol sel					-	B
Kontrol media						-

Keterangan:

B = Bermakna

TB = Tidak Bermakna

Karbamid peroksida dan hidrogen peroksida telah di terima oleh *The US Food and Drug Administration (FDA)* sebagai bahan antiseptik. Antiseptik yang mengandung 10-15% karbamid peroksida dan 1,5-3% hidrogen peroksida diklasifikasikan sebagai bahan yang aman dan efektif. Aplikasi karbamid dan hidrogen peroksida untuk pencuci luka di dalam rongga mulut selama 7 hari dan antiseptik selama 2 hari dikategorikan aman (Li, 1996). Kandungan aktif karbamid/

hidrogen peroksida juga dipakai dalam bahan pemutih gigi. Konsentrasi karbamid/hidrogen peroksida dalam bahan pemutih gigi untuk pemakaian di rumah, sama dengan konsentrasi karbamid/hidrogen peroksida pada produk kesehatan mulut yang telah diterima *FDA*.

Produk antiseptik mulut sudah lama dipakai dengan aman, sedang keamanan bahan pemutih gigi dipertanyakan karena penggunaannya

berbeda. Secara substansi perbedaannya adalah cara aplikasi antara bahan pemutih gigi untuk pemakaian di rumah dan produk kesehatan mulut. Proses pemutihan gigi berkisar satu jam sampai sepanjang malam (Haywood and Heymann, 1989), jadi waktu kontak bahan pemutih gigi dengan jaringan mulut lebih lama dari pada bahan antiseptik. Sebagai tambahan, bahan pemutih gigi biasanya merupakan campuran dari beberapa bahan, sehingga kemungkinan ada interaksi dengan bahan lain yang disebabkan sifat aktif peroksida.

Penelitian Perbedaan Konsentrasi Bahan Pemutih Gigi Terhadap Sitotoksitas menggunakan Esei *MTT* dilakukan untuk mengetahui persentase sel hidup beberapa bahan pemutih gigi dengan konsentrasi berbeda. Karbamid peroksida digunakan mewakili bahan pemutih gigi untuk pemakaian di rumah. Karbamid peroksida 10% setara dengan 3,6% hidrogen peroksida (SCCP, 2005). Karbamid peroksida 15% setara dengan 5,3% hidrogen peroksida (SCCP, 2005). Karbamid peroksida 20% setara dengan 7,5% hidrogen peroksida (Dentist.net, 2006). Hidrogen peroksida 38% mewakili pemakaian bahan pemutih gigi di klinik.

Alasan mengapa hidrogen peroksida diperhitungkan sebagai faktor resiko untuk kesehatan, karena adanya campuran oksidasi dosis tinggi dan mudah terdekomposisi menjadi radikal hidroksil. Radikal hidroksil sebagai radikal bebas dengan elektron tak berpasangan, siap menyerang molekul lain, menghasilkan radikal bebas dan seterusnya. Kerusakan yang dihasilkan mengacu pada *stress* oksidatif menyebabkan disfungsi molekuler dan seluler. Kerusakan pada makromolekul esensial oleh *oxygen-based reactants* menjadi

penyebab beberapa penyakit dan juga berpengaruh pada proses ketunaan (Raha, 2000 *cit* Tietz, 2005).

Jumlah sel hidup dalam penelitian ini yang terdeteksi dengan spektrofotometer atau *ELISA reader* adalah hasil produk *MTT*. Semakin berwarna ungu, nilai absorben makin tinggi dan makin banyak sel yang hidup. Persentase sel hidup pada kelompok I, II, III, IV adalah sebesar 86,73%, 81,22%, 81,82% dan 64,08%. Jumlah persentase sel hidup di atas 50% pada semua kelompok, sehingga dapat dikatakan tidak toksik bila dipakai parameter *CD₅₀* (Telli *et al*, 1999).

Kelompok I, II, III yang menggunakan karbamid peroksida 10-20% jumlah persentase sel hidup cukup tinggi (di atas 80%) dan tidak ada perbedaan bermakna diantara kelompok. FDA menyatakan karbamid peroksida 10-15% aman. Tidak ada penurunan jumlah sel hidup pada karbamid peroksida 20% dibandingkan 15% dalam penelitian ini, sehingga dapat dikatakan konsentrasi karbamid peroksida 10-20% aman. Banyaknya jumlah sel hidup pada bahan pemutih gigi konsentrasi 10-20%, karena kandungan hidrogen peroksida masih relatif rendah, yaitu 3,6-7,5%. Kelompok IV yang menggunakan hidrogen peroksida konsentrasi paling tinggi yaitu 38%, didapatkan persentase sel hidup yang paling rendah yaitu 64,08% mendekati *CD₅₀*, sehingga dapat dikatakan konsentrasi hidrogen peroksida berpengaruh terhadap persentase sel hidup sesuai pendapat Hanks *et al.*, (1993) dan Li (1996). Hidrogen peroksida 1% sebanyak 1 ml melepaskan 3,3 ml oksigen, 10 ml hidrogen peroksida 30% dapat menghasilkan 1 liter oksigen (Giberson, 1989 *cit* Li, 1996). Oksigen yang lebih banyak pada kelompok IV menyebabkan reaksi oksidasi dan kerusakan dalam sel

oleh radikal bebas lebih besar. Li (1996) berpendapat reaksi oksidasi dan kerusakan dalam sel adalah mekanisme utama yang mungkin menjadi penyebab untuk pengamatan toksisitas bahan yang mengandung peroksida.

SIMPULAN

Simpulannya bahan pemutih gigi karbamid peroksida 10%, 15%, 20% dan hidrogen peroksida 38% tidak sitotoksik terhadap sel BHK-21 menggunakan esei MTT bila menggunakan parameter CD_{50} . Uji lanjutan disarankan untuk mengetahui efek biokompatibilitas secara keseluruhan. Dokter gigi disarankan untuk mengikuti aturan pabrik dengan seksama saat aplikasi bahan pemutih gigi pada pasien, dan tetap harus berhati-hati.

DAFTAR PUSTAKA

- American Dental Association (ADA). 2005. ADA Statement on the Safety and Effectiveness of Tooth Whitening Products. Updated February 2005. Available from <http://www.ada.org/prof/resources/positions/statements/whiten2.asp>. Accessed 6/17/2005
- Anusavice KJ. 2003. Phillips' Science of Dental Materials. 11th ed. Philadelphia. WB Saunders Co. p.9-17
- Craig RG and Powers JM. 2002. Restorative Dental Materials. 6th ed, London. Mosby Co. p. 135-140.
- Dentist.net, 2006. Available from <http://www.dentist.net/opalescence.asp>. Accessed 10/1/2006
- Fazwishni S dan Hadijono BS. 2000. Uji sitotoksitas dengan esei MTT. JKGUI. 7: 28-32
- Freshney, RI. 1987. Culture of animal cells. A manual of basic technique, 2nd ed, New York. Alan R Liss Inc. p. 9, 71, 128, 239
- Hanks CT, Fat JC, Wataha JC, Corcoran JF. 1993. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dental Research* 72: 931-938
- Hatrick CD, Eakle WS and Bird WF. 2003. Dental Materials: Clinical Applications for Dental Assistants and Dental Hygienists. Saunders, Philadelphia. p.101-106
- Haywood VB and Heymann HO. 1989. Nightguard vital bleaching. *Quintessence International*. 20: 173-176
- Kasugai S, Hasegawa N and Ogura H. 1991. Application of the MTT colorimetric assay to measure cytotoxic effect of phenolic compound on established rat pulp cells. *J. Dent Res*. 70: 127-130
- Lazo Lab. 2006. MTT Assay. Available from <http://www.pitt.edu/~lazo/MTT.html>. Accessed 02/10/2006
- Li Y. 1996. Biological properties of peroxide-containing tooth whiteners. *Food and Chemical Toxicology*. 34: 887-904
- Li Y, Zhang W, Ponraj E. 2000. Evaluation of Cytotoxicity of BriteSmile Light-Activated Whitening Gel Using MTT Tetrazolium Assay. Available from http://britesmile.lv/docs/white_gel_2_cytotoxicity.pdf. Accessed 10/6/2006
- Matis BA. 2004. The Question-At-Home or In-Office Bleaching: Evidence Based Concepts to Empower Dental Professionals. Available from bmatis@iupui.edu. Accessed 8/27/2004.
- O'Brien WJ. 2002. Dental Materials and Their Selection. 3rd ed. Quintessence Publ Co. Chicago. p.162-163.
- Park JB. 2006 Chapter 1 MTT Assay. Available from <http://www.pl.barc.usda.gov/chapters/chapter1.cfm>. Accessed 9/27/2006
- Rubianto M. 1998. Biokompatibilitas Bahan Allograft (Human bone powder) dibandingkan dengan Bahan Alloplast (Hydroxylapatite). Kumpulan naskah Temu Ilmiah Nasional I (TIMNAS I) FKG UNAIR h:507-509
- Scientific Committee On Consumer Products (SCCP). 2005. Opinion on Hydrogen Peroxide in Tooth Whitening Products. European commission. Health & consumer protection directorate-general. Adopted by the SCCP during the 3rd plenary meeting of 15 March 2005. p. 29, 35
- Telli C, Serper A, Dogan AL, Guc D. 1999. Evaluation of The Cytotoxicity of Calcium Phosphate Root Canal

- Sealers by MTT Assay. *J Endodon.* 25: 811-813
- Tietz, Vieregge, Vober, Wehrman, Welter, Wood, Wangen, Zhan, and Zhou. 2002. Esthetic Options: Tooth Bleaching. Available from http://www1.umn.edu/dental/courses/dent_6806fall02/paper9/paper9.html. Accessed 8/14/2005
- Titien HA. 2002. Pengaruh Tegangan Listrik dan Lama Penyinaran pada Semen Ionomeri Gelas Modifikasi Resin Terhadap Kekerasan Permukaan dan Sitotoksis. *Tesis*. Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya