

TOKSISITAS SABUT KELAPA (*COCOS NUCIFERA L.*) TERHADAP SEL FIBROBLAS SEBAGAI BAHAN PENGUAT RESIN KOMPOSIT

TOXICITY OF COCONUT COIR (*COCOS NUCIFERA L.*) TO FIBROBLAST CELLS AS A COMPOSITE RESIN REINFORCING MATERIAL

¹Afrida Nurmalasari*, ²Fani Pangabdian, ³Twi Agnita Cevanti, ⁴Yongki Hadinata Wijaya, ⁵Diana Soesilo

¹Prodi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri
^{2,3,4,5}Departemen Ilmu Konservasi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hang Tuah, Surabaya, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted:2023-03-09

Accepted:2023-06-05

Publish Online:2023-06-15

Kata Kunci:

Cocos nucifera L.;
fiber-reinforced
composite; toksisitas

Keywords:

Cocos nucifera L.;
fiber-reinforced
composite; toxicity

Abstrak

Latar belakang: Dalam kedokteran gigi bahan inovatif teknologi *fiber-reinforced composite* (FRC) sedang dalam perkembangan. Saat ini salah satu masalah resin komposit serat yaitu berkurangnya sumber daya fosil. Potensi sabut kelapa (*Cocos nucifera L.*) sebagai pengganti bahan penguat serat sintetis tinggi. Sebagai bahan baru yang akan dikembangkan, serat sabut kelapa harus diuji biokompatibilitasnya dengan uji toksisitas. **Tujuan:** Untuk mendapatkan dosis serat sabut yang aman untuk mengetahui perbandingan fraksi volume serat dan matriks dalam pembuatan material komposit baru. **Metode:** Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratory* dengan desain *post-test only group design*. Uji toksisitas dengan uji enzimatik MTT pada sel fibroblas jaringan Gingiva (GT-1) terhadap serat sabut yang disintesis dengan pelarut organik etanol 96% yang diencerkan 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml dan 12,5 mg/ml serta sebagai kontrol dan media kontrol. Setiap sel dilakukan 6 kali pengulangan. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata persentase kematian sel pada konsentrasi 12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml dan 100 mg/ml adalah 8,33±0,19%; 8,37±0,14%; 8,39±0,17%, dan 8,30±0,21%. **Simpulan:** Sabut kelapa yang disintesis dengan etanol 96% tidak toksik terhadap sel fibroblas gingiva. Namun, peningkatan konsentrasi ekstrak sabut kelapa menyebabkan peningkatan persentase kematian sel fibroblas GT1.

Abstract

Background: *Fiber-reinforced composite (FRC) technology is being developed as an innovative material in dentistry. The depletion of fossil resources is a critical problem for today's fiber composite resins. Cocos nucifera L.(coconut coir) has high potential to replace synthetic fiber reinforcement materials. As a new material to be developed, coconut coir fiber must be tested for its biocompatibility with a toxicity test. Purpose:* To obtain a safe dose of coir fiber to determine the ratio of the volume fraction of fiber and matrix in the manufacture of new composite materials. **Methods:** The method used in this research is a *true experimental laboratory with a post-test only group design. Toxicity test by MTT enzymatic test on Gingival tissue fibroblast cells (GT-1) on coir fiber synthesized with 96% ethanol organic solvent diluted 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml and 12.5 mg/ml as well as control and control media. Each cell was repeated 6 times. Results:* Cell death average percentage at concentrations of 12.5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml and 100 mg/ml was 8,33±0,19%; 8,37±0,14% ; 8,39±0,17%, and 8,30±0,21%. **Conclusion:** Coconut coir synthesized with 96% ethanol is not toxic to gingival fibroblast cells. However, increasing the concentration of coconut coir extract caused an increase in the percentage of GT1 fibroblast cell death.

PENDAHULUAN

Salah satu pilihan yang efektif dalam bidang kedokteran gigi yaitu penggunaan serat sebagai bahan restorasi untuk meminimalkan permasalahan utama pada fraktur restorasi gigi posterior. Sebagai solusi inovatif teknologi *fiber-reinforced composite* (FRC) sedang dalam perkembangan. Serat dalam FRC berperan memberikan *transverse strength* yang lebih baik. Serat juga mengurangi *shrinkage* dalam arah tertentu serta memberikan *residual stress* yang lebih rendah (Abouelleil *et al.*, 2015). Saat ini serat yang digunakan dalam FRC adalah serat sintetis. Sebagian besar serat sintetis tidak tersedia pada negara-negara berkembang. Dalam proses produksinya membutuhkan biaya yang sangat besar.

Masalah resin komposit serat yang kritis saat ini yakni berkurangnya sumber fosil sehingga untuk menggantikan serat sintetis banyak dilakukan eksplorasi potensi serat alam (Arsyad & Salam, 2017; Dixit *et al.*, 2017). Produk polimer berbasis bahan hijau seperti tanaman pertanian dan perkebunan merupakan dasar untuk membentuk produk yang eco-efisien, berkelanjutan dan bersaing dengan bahan sintetis. Pada sisi yang lain serat alam juga memiliki kekuatan yang bisa disejajarkan dengan serat sintetis. Bahkan untuk material tertentu serat alam dapat mengungguli serat sintetis (Arsyad & Salam, 2017; Fronza *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian Taha dkk, komposit PVA-HA dengan penguat catgut merupakan bahan yang biokompatibel tanpa menimbulkan efek toksisitas dan hipersensitivitas pada hewan coba, sehingga berpotensi digunakan sebagai bahan penyambung patah tulang (In and Wahyuningtyas, 2010).

Saat ini bahan baku produk komposit di bidang industri serat sabut kelapa yang dikenal dengan nama latin *Cocos nucifera L. (coir)* sudah berkembang dan dimanfaatkan. Sabut kelapa yang sangat melimpah ialah hasil samping dan bagian terbesar dari buah kelapa. Sabut kelapa mempunyai efek farmakologis yang penting dengan toksisitas rendah (Dixit *et al.*, 2017; Kruse *et al.*, 2017). Potensi *coir* sebagai pengganti bahan penguat serat sintetis tinggi. Di bidang material kedokteran gigi, faktor penting yang menentukan struktur dan sifat dari serat sebagai bahan penguat komposit yakni tehnik pemrosesan seratnya. Penelitian ini bertujuan untuk melihat toksisitas serat sabut kelapa yang dilakukan proses delignifikasi dengan perendaman menggunakan larutan alkali dan tekanan hydrothermal yang kemudian ditambahkan urea dan ethanol 96%. Uji toksisitas yang dilakukan adalah dengan menggunakan uji viabilitas sel (Kruse *et al.*, 2017; Kumar & Pandey, 2013).

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini menggunakan metode viabilitas sel. Serat sabut kelapa yang diencerkan 100mg/ml, 50mg/ml, 25mg/ml dan 12,5mg/ml digunakan pada penelitian yang dilakukan di Laboratorium Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Prosedurnya telah disetujui oleh Etika panitia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya, sesuai etika izin No. EC/020/KEPK-FKGUHT/IV/2022. Sabut kelapa dimasukkan ke dalam reactor hydrothermal dengan penambahan organosolvent berupa 60% ethanol sampai $\frac{3}{4}$ bagian reactor hydrothermal terisi (1g : 20 ml). Reaktor hydrothermal kemudian dimasukkan kedalam *muffle furnace* pada temperature 150°C selama 4 jam. Kemudian dilakukan pencucian dan penyaringan menggunakan aquadest dan dikeringkan atau

yang disebut dengan proses delignifikasi. Dilanjutkan dengan bubuk sabut kelapa kering sebanyak 10g yang dimasukkan ke dalam labu *rotavapor buchi* atau yang disebut dengan proses bleaching. Kemudian ditambahkan dengan 300 ml larutan berisi hidrogen peroksida 3% (H₂O₂) bersama dengan 4% NaOH pada 50°C selama 180 menit dalam *rotary vacuum evaporator*. Setelah dipastikan busa yang terbentuk hilang, maka proses bleaching telah selesai. Kemudian dipisahkan slurry dimasukkan kedalam *beaker glass* dan didiamkan beberapa saat agar terjadi separasi antara selulosa padat dan cairannya. Kurang lebih 3 kali proses bleaching dilakukan sampai dirasa warna selulosa mendekati putih. Sesudah pulp mendekati putih dirasa berwarna cerah dikeringkan ke dalam oven dengan suhu 80°C. Lalu pulp dilarutkan NaOH dan Urea dengan komposisi pulp : NaOH : Urea : demin = 1g : 1g: 4g: 14ml. Pengadukan dilakukan sampai terlihat selulosa terlarut dalam larutan basa pada suhu ruang. Pulp yang terlarut dan yang tidak terlarut disaring lalu larutannya disimpan. Larutan antisolvent berupa ethanol 70% dan 97% disiapkan. Setelah itu larutan selulosa dituangkan ke dalam antisolvent dengan rate 20 ml/min. Setelah terbentuk selulosa padat, diamkan hingga terjadi sedimentasi. Lakukan solvent exchange dengan cairan di atas (ethanol) diganti air demin sampai didapatkan pH mendekati pH demin dan bau ethanol tidak tercium. Setelah pH netral didapatkan dan bau alkohol tidak tercium, slurry dimasukkan ke dalam beaker glass 50 ml, serta dimasukkan ke dalam freezer dengan suhu -25°C. Kemudian pada suhu -45° C dan tekanan 5 mTorr selulosa beku di freeze drying sampai partikel kering terbentuk (Kumar & Pandey, 2013).

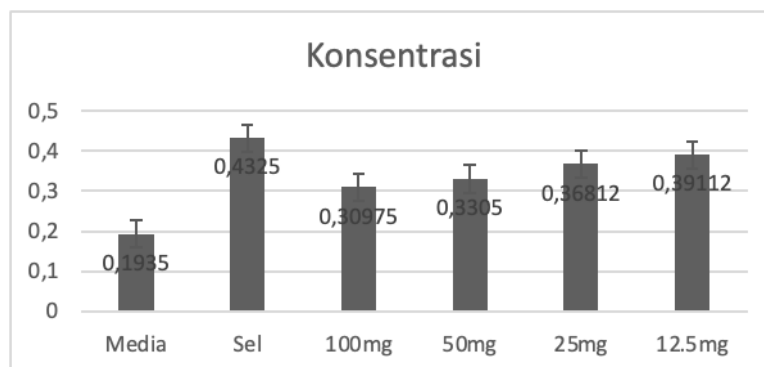
HASIL PENELITIAN

Serat sabut kelapa yang diencerkan 100mg/ml, 50mg/ml, 25mg/ml dan 12,5mg/ml serta adanya kontrol media dan kontrol sel terhadap sel *Fibroblas Ginggival Tissue 1*. Viabilitas sel nya dilihat dari hasil pembacaan berupa *optical density* (tingkat absorbansi). Angka *optical density* yang semakin tinggi maka semakin banyak jumlah sel *Fibroblas Ginggival Tissue 1*(GT1) yang hidup. Pada tabel 1 dapat dilihat nilai *optical density* formazan dalam ekstrak sabut kelapa yang diukur dengan *elisa reader*.

Tabel 1. Nilai rerata dan simpang baku dari sel mati

	N	Rerata	SD
Kontrol media	8	.19350	.019235
Kontrol Sel	8	.43250	.035569
Konsentrasi 100mg	8	.30975	.214495
Konsentrasi 50mg	8	.33050	.193048
Konsentrasi 25mg	8	.36812	.146053
Konsentrasi 12.5mg	8	.39112	.173016
Valid N (listwise)	8		

Nilai persentase viabilitas kontrol media diasumsikan 0%. Di sisi lain, nilai persentase viabilitas kontrol sel diasumsikan 100% (Kurniawati *et al.*, 2015). Program SPSS 17.0 yang mengolah taraf signifikansi 95% ($p < 0,05\%$) digunakan pada penelitian ini.



Gambar 1. Grafik rerata kehidupan sel terhadap ekstrak serat sabut kelapa, simpang baku dan persentase sel hidup

Nilai rerata kehidupan sel pada kelompok kontrol sel paling tinggi sementara nilai persentase kehidupan sel pada kelompok kontrol media paling rendah dapat dilihat di gambar 1. Data hasil penelitian yang menunjukkan tidak toksiknya ekstrak serat sabut kelapa terhadap sel *Fibroblas Ginggival Tissue 1* pada konsentrasi 100mg, 50mg, 25mg dan 12.5mg kemudian diuji signifikansinya dengan tingkat kesalahan 5% ($p < 0,05$) dan dianalisis dengan program SPSS versi 17.0. Sebelum dilakukan uji hipotesis, data hasil penelitian diuji normalitas distribusinya dengan uji *Shapiro-Wilk* dan dapat dilihat pada tabel berikut. Uji *Shapiro-Wilk* digunakan karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50 (Ma'rif *et al.*, 2013).

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas dengan *Shapiro-Wilk*

Jenis perlakuan	Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.
Absorbansi Kontrol media	.940	8	.610
Kontrol sel	.865	8	.136
Konsentrasi 100mg	.923	8	.457
Konsentrasi 50mg	.936	8	.575
Konsentrasi 25mg	.931	8	.521
Konsentrasi 12.5mg	.990	8	.995

Berdasarkan tabel hasil uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* dapat dilihat bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki nilai signifikansi $p > 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas ekstrak serat sabut kelapa terhadap sel *Fibroblas Ginggival Tissue 1* terdistribusi normal.

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas varians dengan *Levene*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.417	5	42	.111

Berdasarkan hasil uji homogenitas varians dengan *Levene* diketahui bahwa nilai signifikansi 0.111 atau dapat diartikan $p > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan varians antara kelompok data yang dibandingkan dengan kata lain data homogen. Dengan demikian uji dapat dilanjutkan dengan uji *Oneway ANOVA*.

Uji ANOVA digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan toksisitas antara semua kelompok perlakuan yaitu pengaruh ekstrak serat sabut kelapa terhadap sel *Fibroblas* GT1.

Tabel 4. Hasil Uji Anova

ANOVA					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.275	5	.055	2.425	.051
Within Groups	.953	42	.023		
Total	1.228	47			

Hasil Uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai signifikansi adalah 0,051 lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan toksisitas yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol sel.

Tabel 5. Hasil Uji Post Hoc LSD

	Media	Sel	100 mg	50mg	25mg	12.5mg
Media	-	0.003	0.130	0.076	0.025	0.012
Sel	0.003	-	0.111	0.183	0.398	0.586
100mg	0.130	0.111	-	0.784	0.443	0.286
50 mg	0.076	0.183	0.784	-	0.620	0.425
25mg	0.025	0.398	0.443	0.620	-	0.762
12.5 mg	0.012	0.586	0.286	0.425	0.762	-

Hasil uji post hoc LSD menunjukkan nilai signifikansi pada kelompok kontrol media dan kontrol sel, kelompok kontrol media dan konsentrasi 100mg, kelompok kontrol media dan konsentrasi 25mg, dan kelompok control media dan konsentrasi 12.5% menunjukkan nilai $p < 0.05$. Artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol media dan kontrol sel, kelompok kontrol media dan konsentrasi 100mg, kelompok kontrol media dan konsentrasi 25mg, dan kelompok control media dan konsentrasi 12.5%. Sedangkan untuk kelompok lainnya nilai signifikansi menunjukkan nilai $p > 0.05$ sehingga dapat diartikan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada kelompok lainnya.

PEMBAHASAN

Di bidang kedokteran gigi, syarat bahan yang digunakan yaitu tidak mengiritasi, *non-toxic* serta memiliki sifat biokompatibilitas. Efek yang merugikan terhadap lingkungan biologis baik lokal maupun sistemik tidak boleh terdapat pada bahan yang diproduksi. Uji sitotoksitas secara *in vitro* digunakan pada penelitian ini dikarenakan lebih mudah dikontrol, penilaian sistem parameternya lebih sederhana, mengurangi variabel pembaur serta lebih spesifik dalam penentuan mekanisme toksisitasnya. Sitotoksitas suatu bahan dapat dinilai dengan metode

uji enzimatik menggunakan pereaksi 3-(4,5-dimethylthiazol- 2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT). Dasar uji enzimatik MTT yakni kemampuan sel hidup diukur berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Untuk pengukuran proliferasi seluler secara kuantitatif atau pengukuran jumlah sel yang hidup uji ini banyak digunakan (Kumar and Pandey, 2013; Kurniawati *et al.*, 2015).

Pada hasil dapat diketahui bahwa tingkat konsentrasi serat sabut kelapa semakin tinggi maka persentase kematian *gingival fibroblas cells* (GT1) semakin meningkat (Kurniawati *et al.*, 2015). Perubahan permeabilitas membran sel merupakan pengaruh yang timbul terhadap viabilitas sel GT1. Sitotoksin mempunyai efek sitotoksik yang bisa mengakibatkan permeabilitas membran sel berubah atau kerusakan integritas membran sel sehingga *trypan blue* dapat menembus membran sel. Sel menjadi non viabel dan kematian sel dapat terjadi disebabkan oleh karena membran sel yang rusak. *Trypan blue* dapat menembus membran sel yang non-viabel sementara membran sel yang viabel impermiabel terhadap *trypan blue* (Kurniawati *et al.*, 2015; Noorunnisa Khanam, *et al.*, 2010). Semakin besar pengaruh yang ditimbulkan akan menyebabkan persentase kematian sel semakin bertambah atau dengan kata lain sel mati semakin banyak. Kematian sel diperkirakan diperantarai oleh motif biokimiawi yang bisa menjelaskan kematian sel yang terjadi terkait sitotoksisitas suatu bahan. Motif biokimianya yaitu: 1)Penipisan kadar ATP (Adenosin Triphosphate). Enzim yang berperan dalam pembentukan ATP yang merupakan suatu bentuk energi yang dalam berbagai aktivitas fungsional sel sangat diperlukan yakni enzim dehidrogenase (Ma'ruf *et al.*, 2013). Efek sitotoksik suatu sitotoksin menyebabkan enzim dehidrogenase tidak aktif sehingga berkurangnya ATP dan mengganggu aktivitas sel yang bisa berakibat pada kematian sel. 2)Defek pada membran sel. Gambaran umum jejas sel berupa permeabilitas membran selektif yang hilang atau kerusakan membran. Mitokondria tempat dimana ATP diproduksi dapat dipengaruhi oleh defek ini. Proliferasi maupun produksi matriks ekstra seluler dan fibronectin merupakan aktivitas fungsional GT1, berkaitan dengan proses perbaikan jaringan gingiva, akan terganggu apabila paparan sitotoksin mengakibatkan sel non viabel atau mengakibatkan sel mengalami jejas yang ireversibel. Hal itu diakibatkan oleh karena proses mekanisme seluler saling berhubungan dimana apabila salah satu komponen sel mengalami jejas akan mempengaruhi semua aktivitas sel termasuk proses perbaikan jaringan yang memerlukan regenerasi sel yang mengalami jejas. Apabila paparan tidak bersifat sitotoksik sel tetap viabel dan sel tidak akan terganggu dalam aktivitas fungsionalnya (Kurniawati *et al.*, 2015; Ma'ruf *et al.*, 2013; Nurfajri and Arwizet, 2019).

Konsentrasi larutan uji dengan sitotoksisitasnya memiliki korelasi atau hubungan timbal balik. Jumlah sel mati semakin banyak seiring konsentrasi yang bertambah. Hal tersebut menyebabkan konsentrasi larutan uji semakin tinggi, absorbansi sumuran semakin rendah maka dari itu semakin kecil persen kehidupannya. Sementara itu, pada kontrol DMSO apabila dibandingkan kontrol sel, tidak terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi dan persen kehidupan. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan diterangkan bahwa sabut kelapa telah diketahui mengandung senyawa bioaktif yang dikaitkan dengan khasiatnya diantaranya, *tannin*, *flavonoid* dalam bentuk *catechin* dan *epicatechin*, *alkaloid* dan *saponin*. Pada beberapa senyawa aktif dari ekstrak serat sabut kelapa terdapat efek sitotoksik yang bisa menyebabkan kematian sel. Inhibisi aktivitas proteosom di nukleus merupakan efek sitotoksik

yang dimiliki oleh tannin (Harsini and Febri, 2017; Kurniawati *et al.*, 2015; Nurfajri and Arwizet, 2019). Proteosom mempunyai fungsi yang penting dalam proliferasi hambatan pada aktivitas proteosom akan menghambat proliferasi sel yang bisa mengakibatkan kematian sel. Senyawa lain yang juga mempunyai efek sitotoksik yaitu flavonoid. Flavonoid memiliki efek sitotoksik yang tampak dari kemampuannya dalam menghambat DNA topoisomerase yang terdapat di dalam nukleus. Replikasi, transkripsi, dan rekombinasi DNA merupakan tanggung jawab topoisomerase (Noorunnisa Khanam *et al.*, 2010). DNA topoisomerase yang terhambat akan mengakibatkan kerusakan double strand DNA permanen dan menghambat proses replikasi serta transkripsi DNA. Proses proliferasi dan differensiasi sel akan terhambat pula dan apoptosis terjadi. Toksisitas sel bisa ditimbulkan oleh saponin sebab efek yang diberikan pada reseptor kematian pada membran sel mitokondria. Hal tersebut mengakibatkan mitokondria melepaskan faktor-faktor seperti caspase yang memiliki kemampuan menginduksi terjadinya apoptosis (Kurniawati *et al.*, 2015; Nurfajri and Arwizet, 2019; Nurnasari and Nurindah, 2017).

Hasil Uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai signifikansi adalah 0,051 lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan toksisitas yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol sel. Penelitian menunjukkan rata-rata persentase kematian jumlah sel pada konsentrasi 12,5mg/ml, 25mg/ml, 50mg/ml dan 100mg/ml adalah $8,33 \pm 0,19\%$, $8,37 \pm 0,14\%$, $8,39 \pm 0,17\%$ dan $8,30 \pm 0,21$. Berdasarkan pedoman dari Sjögren bahan tidak bersifat toksik jika kematian sel masih dibawah 10%. Hal tersebut didukung dengan hasil penelitian sebelumnya, bahwa Ekstrak kulit batang jambu mete mengandung asam anakardat dan asam galat. Konsentrasi 0,2% merupakan konsentrasi yang tidak toksik terhadap sel fibroblas secara *in vitro*. Hasil penelitian Ma'ruf dkk didapatkan panjang dan posisi serat kaca non-gigi berpengaruh pada kekuatan lentur FRC dalam resin prostesis terikat. Serat kaca non-gigi dengan 4 panjang mm dan posisi kompresi memiliki yang terendah kekuatan lentur; sementara serat kaca non-gigi dengan Panjang 12 mm dan posisi tegangan memiliki yang tertinggi kekuatan lentur (Septiwidyati and Auerkari, 2019; Wulandari, Bahri, and Mappiratu, 2018).

SIMPULAN

Pada penelitian secara *in vitro* ini didapatkan simpulan yaitu peningkatan konsentrasi ekstrak serat sabut kelapa menyebabkan peningkatan persentase kematian sel *gingival fibroblast cells* (GT1). Secara keseluruhan Serat sabut kelapa yang disintesis dengan ethanol 96% tidak bersifat toksik terhadap sel fibroblas gingiva.

REFERENSI

- Abouelleil, H. *et al.* 2015. Comparison of mechanical properties of a new fiber reinforced composite and bulk filling composites. *Restorative Dentistry & Endodontics*. 38(2), e19–e30. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2021.12.029>.
- Arsyad, M. and Salam, A. 2017. Analisis Pengaruh Konsentrasi Larutan Alkali Terhadap Perubahan Diameter Serat Sabut Kelapa. *INTEK: Jurnal Penelitian*. 4(1), 10. <https://doi.org/10.31963/intek.v4i1.90>.
- Dixit, S. *et al.* 2017. Natural fibre reinforced polymer composite materials - A review. *Polymers from Renewable Resources*. 8(2), 71–78. <https://doi.org/10.1177/204124791700800203>.
- Fronza, B.M. *et al.* 2017. Characterization of inorganic filler content, mechanical properties, and light transmission of bulk-fill resin composites. *Operative Dentistry*. 42(4), 445–455. <https://doi.org/10.2341/16-024-L>.
- Harsini, H. and Febri, A. 2017. Pengaruh Variansi Konsentrasi Ekstrak Kulit Batang Jambu Mete terhadap Sitotoksikitas Sel Fibroblas. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 2(1), 6. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.10730>.
- In, F. and Wahyuningtyas, E. 2010. Protosa Maksilofasial dengan Hollow Bulb Paska Hemimaxillectomy pada Kasus Kehilangan Seluruh Gigi Rahang Atas. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 17(1), 43. <https://doi.org/10.22146/majkedgiind.16020>.
- Kruse, C.R. *et al.* 2017. The effect of pH on cell viability, cell migration, cell proliferation, wound closure, and wound reepithelialization: In vitro and in vivo study. *Wound Repair and Regeneration*. 25(2), 260–269. <https://doi.org/10.1111/wrr.12526>.
- Kumar, S. and Pandey, A.K. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview Shashank. *The Scientific World Journal*. 16. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819096-8.00048-3>.
- Kurniawati, Y. *et al.* 2015. Kultur Primer Fibroblas: Penelitian Pendahuluan. *Majalah Kedokteran Andalas*. 38(1), 33. <https://doi.org/10.22338/mka.v38.i1.p33-40.2015>.
- Ma'ruf, M.T. *et al.* (2013) 'Uji Biokompatibilitas Komposit Polivinil Alkohol-Hidroksiapatit dengan Penguat Catgut sebagai Bahan Penyambung Patah Tulang. *Jurnal Teknosains*. 3(1), 1–80.
- Noorunnisa Khanam, P. *et al.* 2010. Tensile, flexural, and compressive properties of coir/silk fiber-reinforced hybrid composites. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*. 29(14), 2124–2127. <https://doi.org/10.1177/0731684409345413>.
- Nurfajri and Arwizet. 2019. Analisis Kekuatan Tarik Komposit Serabut Kelapa Dan Ijuk Dengan Perlakuan Alkali (NaOH). *Journal of Multidisciplinary Research and Development*. 1(4), 791–797.

- Nurnasari, E. and Nurindah, N. 2017. Karakteristik Kimia Serat Buah, Serat Batang, dan Serat Daun. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*. 9(2), 64–72. <https://doi.org/10.21082/btsm.v9n2.2017.64-72>.
- Septiwidyati, T.R. and Auerkari, E.I. 2019. Genotoxin Effect of Composite Resin. *Indonesian Journal of Legal and Forensic Sciences (IJLFS)*. 9(1), 8. <https://doi.org/10.24843/ijlfs.2019.v09.i01.p02>.
- Wulandari, A., Bahri, S. and Mappiratu, M. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Sabut Kelapa (*Cocos nucifera Linn*) pada Berbagai Tingkatan Ketuaan. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*. 4(3), 276–284. <https://doi.org/10.22487/kovalen.2018.v4.i3.11854>.