



Studi in Vitro Uji Sitotoksitas Gel Asap Cair Tempurung Kelapa terhadap Sel Ligamen Periodontal sebagai Bahan Perawatan Saluran Akar dengan Metode MTT Assay

Linda Novelgia Setiawan*, Roselyn Avrillia, Sonia Salsabila Pohan

Program Studi Sarjana Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Jalan Sampul No. 3, Medan, Indonesia 20154.

Email Korespondensi: linda.novelgiasetiawan@gmail.com

Abstrak

Bahan irigasi yang saat ini banyak digunakan, seperti natrium hipoklorit (NaOCl), klorheksidin, dan EDTA, terbukti efektif menghilangkan bakteri namun memiliki risiko toksisitas terhadap sel dan jaringan sekitarnya. Paparan NaOCl pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan iritasi jaringan, nekrosis, hingga reaksi ekstrusi yang serius pada jaringan periapikal. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sitotoksitas gel asap cair tempurung kelapa (CS-LS) terhadap sel ligamen periodontal (PDL cells) sebagai kandidat bahan perawatan saluran akar menggunakan metode MTT assay. Penelitian eksperimental in vitro dengan rancangan pre-test dan post-test group design melibatkan tujuh kelompok perlakuan (kontrol media, kontrol sel, kontrol positif NaOCl 5,25%, serta gel CS-LS pada konsentrasi 6,25%, 12,5%, 50%, 75%, dan 100%) dengan lima replikasi per kelompok. Viabilitas sel dihitung berdasarkan nilai absorbansi MTT ($\lambda = 570$ nm) dan dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis diikuti uji Mann-Whitney bila diperlukan. Hasil menunjukkan perbedaan bermakna secara statistik pada nilai absorbansi antar kelompok ($p < 0,05$). Persentase viabilitas sel tertinggi tercatat pada gel CS-LS 6,25% (76,30%), sehingga memenuhi kriteria biokompatibilitas (viabilitas $\geq 70\%$ menurut ISO 10993-5), sedangkan pada konsentrasi 12,5% viabilitas menurun menjadi sekitar 50,25% (mendekati nilai IC_{50}). Konsentrasi tinggi (50–100%) menghasilkan penurunan viabilitas yang substansial (≈ 31 –33%), meskipun masih menunjukkan viabilitas relatif lebih baik dibandingkan NaOCl 5,25%. Berdasarkan temuan ini, gel CS-LS pada konsentrasi di bawah 12,5% tampak aman dan berpotensi dikembangkan sebagai alternatif bahan irigasi endodontik; namun penelitian lanjutan yang memperluas rentang konsentrasi, menambahkan parameter biologis (misalnya: proliferasi, ekspresi gen osteogenik, marker inflamasi), serta studi in vivo dan uji biokompatibilitas jangka panjang direkomendasikan untuk mengonfirmasi keamanan dan potensi aplikasi klinis.

Kata kunci: Gel Asap Cair Tempurung Kelapa; Sitotoksitas; Sel Ligamen Periodontal; MTT Assay; Biokompatibilitas.

In Vitro Study of Cytotoxicity Test of Liquid Coconut Shell Smoke Gel on Periodontal Ligament Cells as Root Canal Treatment Material Using MTT Assay Method

Abstract

Currently widely used irrigants, such as sodium hypochlorite (NaOCl), chlorhexidine, and EDTA, have been shown to be effective in eliminating bacteria but carry the risk of toxicity to surrounding cells and tissues. Exposure to NaOCl at high concentrations can cause tissue irritation, necrosis, and even serious extrusion reactions in periapical tissues. This study aimed to evaluate the cytotoxicity of coconut shell liquid smoke gel (CS-LS) on periodontal ligament (PDL) cells as a potential root canal treatment material using the MTT assay method. This research was an in vitro experimental study with a pre-test and post-test group design, involving seven treatment groups: media control, cell control, positive control (5.25% NaOCl), and CS-LS gel at concentrations of 6.25%, 12.5%, 50%, 75%, and 100%, with five replicates in each group. Cell viability was determined based on MTT absorbance values ($\lambda = 570$ nm) and statistically analyzed using the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-Whitney post hoc test when appropriate. The results demonstrated a statistically significant difference in absorbance values among the treatment groups ($p < 0.05$). The highest cell viability was observed in the 6.25% CS-LS gel group (76.30%), meeting the biocompatibility criteria (cell viability $\geq 70\%$ according to ISO 10993-5), whereas the 12.5% concentration showed a reduced viability of approximately 50.25%, approaching the IC_{50} value. Higher concentrations (50–100%) resulted in a substantial decrease in cell viability (approximately 31–33%), although these values remained relatively higher than those observed with 5.25% NaOCl. In conclusion, CS-LS gel at concentrations below 12.5% exhibits low cytotoxicity and potential for development as an alternative endodontic irrigant; however, further studies incorporating a wider range of concentrations, additional biological parameters (such as cell proliferation, osteogenic gene expression, and inflammatory markers), as well as in vivo and long-term biocompatibility assessments, are necessary to confirm its safety and clinical applicability.

Keywords: Coconut Shell Liquid Smoke Gel; Cytotoxicity; Periodontal Ligament Cells; MTT Assay; Biocompatibility.

How to Cite: Setiawan, L. N., Avrillia, R., & Pohan, S. S. (2026). Studi in Vitro Uji Sitotoksitas Gel Asap Cair Tempurung Kelapa terhadap Sel Ligamen Periodontal sebagai Bahan Perawatan Saluran Akar dengan Metode MTT Assay. *Empiricism Journal*, 7(1), 1-12. <https://doi.org/10.36312/mjketr61>



<https://doi.org/10.36312/mjketr61>

Copyright© 2026, Setiawan et al.

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](#) License.



PENDAHULUAN

Infeksi mikroba pada sistem saluran akar masih menjadi salah satu tantangan terbesar dalam bidang endodontik. *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri patogen yang paling sering ditemukan pada kasus kegagalan perawatan saluran akar karena kemampuannya bertahan dalam kondisi ekstrim serta membentuk biofilm yang resisten (Alghamdi and Shakir, 2020). Ketidakmampuan mengeliminasi mikroorganisme secara tuntas dapat menyebabkan peradangan kronis, abses periapikal, hingga kehilangan gigi permanen (Sobieszczanski et al., 2023). Oleh karena itu, diperlukan bahan antimikroba yang efektif serta aman bagi jaringan periapikal untuk menunjang keberhasilan perawatan endodontik.

Bahan irigasi yang saat ini banyak digunakan, seperti natrium hipoklorit (NaOCl), klorheksidin, dan EDTA, terbukti efektif menghilangkan bakteri namun memiliki risiko toksisitas terhadap sel dan jaringan sekitarnya. Paparan NaOCl pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan iritasi jaringan, nekrosis, hingga reaksi ekstrusi yang serius pada jaringan periapikal (Drews et al., 2023). Studi terbaru menekankan perlunya bahan alternatif berbasis alam yang memberikan efek antimikroba tanpa menimbulkan efek toksik terhadap jaringan vital di rongga mulut, khususnya sel fibroblas ligamen periodontal (PDLF) yang berperan penting dalam regenerasi jaringan periodontal (Pedrinha, 2024).

Asap cair tempurung kelapa (coconut shell liquid smoke/CL-LS) merupakan produk hasil pirolisis biomass yang mengandung senyawa bioaktif seperti fenol, asam asetat, dan karbonil yang memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan, dan antiinflamasi (Mulyawanti et al., 2019; Taufik and Zebua, 2023). Beberapa penelitian menunjukkan efektivitas gel asap cair dalam menghambat bakteri patogen, termasuk bakteri Gram-negatif dan Gram-positif, melalui mekanisme denaturasi protein dan kerusakan membran sel mikroba (Lumban Tobing et al., 2021). Dengan potensi tersebut, asap cair tempurung kelapa dapat dikembangkan sebagai bahan alami yang lebih aman dibandingkan bahan sintetis dalam perawatan saluran akar.

Sediaan gel menjadi bentuk yang ideal untuk aplikasi endodontik karena mampu melekat lebih lama pada permukaan jaringan, memberikan pelepasan senyawa aktif secara bertahap, serta mempermudah pengendalian kontak antara bahan dan dinding saluran akar (Putri and Anindhita, 2022). Formulasi berbentuk gel juga memungkinkan distribusi senyawa aktif yang lebih merata serta meningkatkan stabilitas bahan selama proses aplikasi. Studi terbaru menunjukkan bahwa penggunaan gel sebagai penghantar antimikroba dapat meningkatkan efektivitas antibakteri dan memperpanjang durasi kerja bahan (Ailincal et al., 2025).

Meskipun memiliki potensi antimikroba yang kuat, asap cair tempurung kelapa masih menyimpan risiko toksisitas karena kandungan senyawa fenolik yang pada konsentrasi tinggi dapat merusak sel hidup, termasuk sel fibroblas (Selin et al., 2022). Oleh sebab itu, sebelum diaplikasikan sebagai agen perawatan saluran akar, perlu dilakukan uji biokompatibilitas terhadap sel ligamen periodontal (PDLF). Metode MTT assay merupakan standar emas dalam menilai viabilitas sel melalui pengukuran aktivitas mitokondria terhadap berbagai konsentrasi bahan uji (Maru et al., 2021). Penentuan nilai IC_{50} juga diperlukan untuk mengetahui konsentrasi ambang toksik gel asap cair terhadap sel PDLF, sehingga formulasi yang aman dan efektif dapat dikembangkan sebagai alternatif bahan perawatan saluran akar (Jimenez-Bueno et al., 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Surboyo (2021) menunjukkan bahwa *coconut shell liquid smoke* (CS-LS) memiliki efek anti-inflamasi dan dapat mempercepat penyembuhan luka pada model hewan, sehingga berpotensi digunakan secara terapeutik. Namun, hasil uji in vitro juga memperlihatkan bahwa beberapa sampel CS-LS dapat bersifat sitotoksik, tergantung pada komposisi dan konsentrasinya. Oleh karena itu, sebelum digunakan

sebagai gel topikal pada jaringan pulpa atau ligamen, penting untuk menentukan konsentrasi aman secara empiris, misalnya dengan menghitung nilai IC_{50} dan memilih konsentrasi yang menjaga viabilitas sel minimal 70–80%, sesuai tujuan klinis yang diinginkan. Selain uji sitotoksitas akut, diperlukan pula evaluasi lanjutan seperti pengujian efek pro- atau anti-inflamasi melalui analisis sitokin, pemeriksaan genotoksitas, serta uji in vivo terkontrol untuk memastikan keamanan dan efektivitasnya sebelum diterapkan dalam praktik klinis (Surboyono et al., 2021).

Infeksi saluran akar yang persisten masih menjadi penyebab utama kegagalan perawatan endodontik, sementara bahan irigasi sintesis seperti natrium hipoklorit dan klorheksidin memiliki risiko sitotoksitas terhadap jaringan periodontal. Asap cair tempurung kelapa, yang kaya fenol, asam organik, serta senyawa bioaktif dengan efek antimikroba dan antiinflamasi, berpotensi menjadi alternatif bahan perawatan saluran akar yang lebih aman dan berkelanjutan. Namun, kandungan fenoliknya tetap berisiko toksik sehingga diperlukan evaluasi biokompatibilitas, khususnya terhadap sel ligamen periodontal (PDLF) yang berperan penting dalam kesehatan jaringan periapikal. Uji sitotoksitas menggunakan metode MTT assay menjadi langkah krusial untuk menentukan keamanan, viabilitas sel, dan nilai IC_{50} gel asap cair sebelum dapat diaplikasikan secara klinis. Oleh karena itu, penelitian ini mendesak dilakukan untuk memastikan potensi gel asap cair tempurung kelapa sebagai bahan perawatan saluran akar yang efektif, aman, dan sesuai prinsip biomaterial modern. hingga kini, belum ada penelitian yang secara sistematis mengevaluasi rentang konsentrasi CS-LS berbentuk gel terhadap PDLF menggunakan MTT.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *pre-test* dan *post-test group design*. Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Gadjah Mada (UGM) dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Prima Indonesia (FKKGK-UNPRI) Medan dari bulan April-Juni 2025.

Populasi penelitian ini adalah sel ligamen periodontal (periodontal ligament/PDL cells) yang digunakan sebagai representasi jaringan organik lunak pada gigi. Sel PDL dipilih karena memiliki kemiripan karakteristik biologis dengan jaringan lunak yang berpotensi terpapar bahan irigasi atau material intracanal selama perawatan saluran akar. Sampel penelitian terdiri dari sel PDL yang dibagi ke dalam tujuh kelompok perlakuan. Setiap kelompok diuji menggunakan metode MTT assay untuk mengevaluasi tingkat viabilitas sel setelah paparan bahan uji. Setiap kelompok diuji dengan lima kali replikasi ($n = 5$) guna mendapatkan nilai rerata yang lebih reliabel. Ketujuh kelompok yang mendapat perlakuan antara lain:

- Kelompok 1: Kontrol Media
- Kelompok 2: Kontrol Sel (Saline steril)
- Kelompok 3: Kontrol Positif (NaOCl 5,25%)
- Kelompok 4: Gel CS-LS 12,5%
- Kelompok 5: Gel CS-LS 50%
- Kelompok 6: Gel CS-LS 75%
- Kelompok 7: Gel CS-LS 100%

Variabel bebas dari penelitian ini adalah Konsentrasi gel CS-LS yang diukur dengan alat ukur volume/mikropipet, variabel terikatnya merupakan viabilitas sel (MTT) akan diukur menggunakan ELISA reader (570 nm), sedangkan variabel terkontrolnya yaitu kelarutan senyawa ditentukan dengan Spektrofotometer Uv-Vis

Penelitian ini menggunakan beberapa alat laboratorium kultur sel, antara lain biosafety cabinet, inkubator CO_2 37°C, mikropipet, plate kultur sel 96-well, *centrifuge*, *vortex*, *inverted microscope*, serta *microplate reader* dengan panjang gelombang 570 nm (Fuente et al., 2023). Bahan penelitian terdiri dari sel ligamen periodontal manusia (PDL cells) sebagai model biologis, media kultur DMEM yang diperkaya FBS 10% dan antibiotik penstrep, larutan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida), serta DMSO untuk melarutkan kristal formazan (Mandrolli et al., 2020). Bahan uji terdiri dari gel asap cair tempurung kelapa (CS-LS) dalam konsentrasi 6,25%, 12,5%, 50%, 75%, dan 100%, serta

bahan kontrol yang meliputi NaOCl 5,25% sebagai kontrol positif dan salin steril sebagai kontrol negatif. Semua alat seperti pinset, spatula, dan container disterilkan menggunakan autoklaf sebelum digunakan dalam prosedur penelitian (Nurhalita., 2025).

Tahapan pembuatan gel dimulai dengan menimbang bahan dasar gel, seperti kitosan atau karbopol, sesuai dengan formula yang telah ditentukan. Bahan gel tersebut kemudian dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, misalnya air steril atau buffer PBS, sambil terus diaduk hingga larut sempurna. Jika menggunakan kitosan, ditambahkan asam asetat atau pengatur pH untuk menyesuaikan kondisi gel (Noubari et al, 2021). Selanjutnya, asap cair tempurung kelapa dimasukkan ke dalam gel pada berbagai konsentrasi yang akan diuji, kemudian diaduk hingga campuran menjadi homogen dan tidak menggumpal. Setelah itu, gel yang telah siap disterilkan menggunakan metode aseptik atau dengan filter steril berpori 0,22 µm sebelum digunakan untuk uji sitotoksitas sel (Bajpai et l., 2023).

Asap cair tempurung kelapa (*Coconut Shell Liquid Smoke/CS-LS*) yang digunakan dalam penelitian ini merupakan asap hasil pirolisis tempurung kelapa yang telah melalui proses pemurnian dan distilasi. Selanjutnya, asap cair diformulasikan dalam bentuk gel menggunakan bahan gelling agent yang aman untuk aplikasi biomedis (Zebua et all., 2023). Gel kemudian diencerkan sesuai kebutuhan sehingga diperoleh lima konsentrasi uji, yaitu 6,25%, 12,5%, 50%, 75%, dan 100%. Masing-masing konsentrasi disiapkan dalam kondisi steril, disimpan pada suhu kamar terkontrol, dan digunakan segera untuk mencegah degradasi komponen aktif (Nosartika et all., 2021).

Sel ligamen periodontal yang telah mencapai konfluensi 80–90% dipanen dan ditanamkan ke dalam plate 96-well dengan kepadatan tertentu (misalnya 1×10^4 sel/well) kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan sel beradaptasi. Setelah itu, media lama dibuang dan setiap kelompok perlakuan diberikan bahan uji sesuai konsentrasi: NaOCl 5,25% (kontrol positif), salin steril (kontrol negatif), serta gel CS-LS 6,25%, 12,5%, 50%, 75%, dan 100%. Setiap kelompok diulang tiga kali (*triplo*) untuk memperoleh data yang representatif. Sel diinkubasi kembali selama waktu paparan tertentu (misalnya 24 jam). Setelah masa paparan selesai, larutan MTT ditambahkan ke tiap sumur dan plate diinkubasi hingga terbentuk kristal formazan oleh sel hidup. Kristal ini kemudian dilarutkan menggunakan DMSO, dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 570 nm menggunakan microplate reader (Tosun et al., 2024; Bilvinaite et al., 2022).

Viabilitas sel dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang dihasilkan dari pembentukan kristal formazan. Semakin tinggi absorbansi, semakin besar jumlah sel yang masih hidup setelah paparan bahan uji. Persentase viabilitas sel dihitung menggunakan rumus (Soesillo et al., 2023):

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan}}{\text{Absorbansi kontrol negatif}} \times 100\%$$

Nilai viabilitas sel digunakan untuk menentukan tingkat sitotoksitas gel asap cair tempurung kelapa. Menurut standar ISO 10993-5:2009, suatu bahan dianggap memiliki potensi sitotoksik apabila menyebabkan penurunan viabilitas sel lebih dari 30 % dibandingkan kontrol negatif setelah paparan, sehingga bahan dengan viabilitas sel ≥ 70 % dikategorikan tidak sitotoksik, sedangkan bahan dengan viabilitas < 70 % menunjukkan adanya potensi sitotoksik (Jung O et al., 2019).

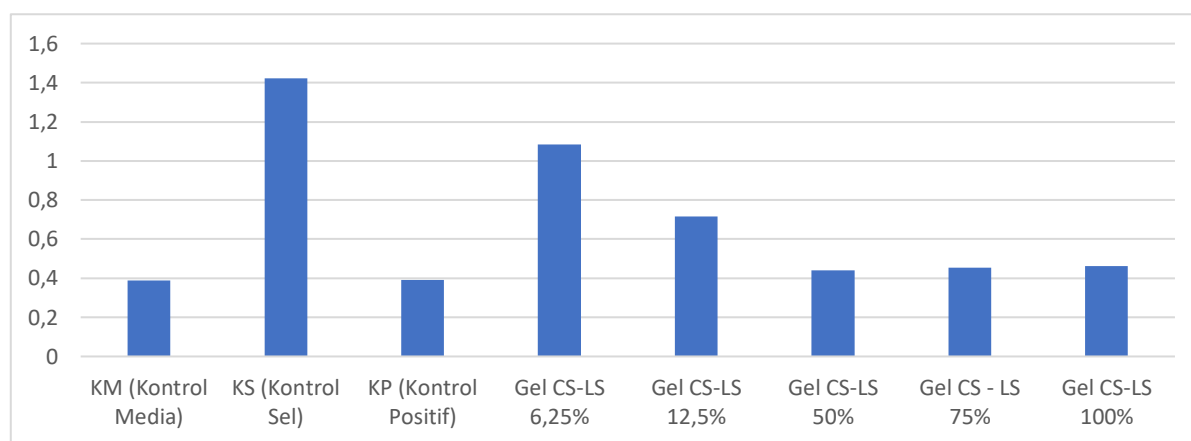
Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak SPSS versi 24. Data absorbansi dari pembacaan *microplate reader* ditabulasikan dan dihitung nilai rata-rata serta standar deviasi pada masing-masing kelompok. Analisis statistik dilakukan untuk membandingkan viabilitas sel antar kelompok perlakuan. Uji normalitas dilakukan terlebih dahulu, diikuti dengan uji One-Way ANOVA untuk data berdistribusi normal, atau Kruskal-Wallis jika distribusi tidak normal. Apabila terdapat perbedaan bermakna, analisis dilanjutkan dengan uji post hoc seperti Tukey HSD atau *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok secara spesifik. Tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rerata Nilai Absorbansi MTT Sel Ligamen Periodontal Setelah Pemberian Gel Asap Cair Tempurung Kelapa digambarkan dalam Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Rerata Nilai Absorbansi MTT Sel Ligamen Periodontal Setelah Pemberian Gel Asap Cair Tempurung Kelapa

Kelompok Perlakuan	Mean \pm SD Absorbansi	N
KM (Kontrol Media)	0,38780 \pm 0,005263	5
KS (Kontrol Sel)	1,42260 \pm 0,139041	5
KP (Kontrol Positif)	0,39120 \pm 0,009757	5
Gel CS-LS 6,25%	1,08540 \pm 0,138832	5
Gel CS-LS 12,5%	0,71480 \pm 0,120103	5
Gel CS-LS 50%	0,44060 \pm 0,006841	5
Gel CS - LS 75%	0,45440 \pm 0,013278	5
Gel CS-LS 100%	0,46100 \pm 0,012227	5
Total	0,66973 \pm 0,372783	40



Gambar 1. Rerata Nilai Absorbansi MTT Sel Ligamen Periodontal Setelah Pemberian Gel Asap Cair Tempurung Kelapa

Berdasarkan tabel 1 atau gambar 1 menunjukkan rerata \pm standar deviasi nilai absorbansi sel ligamen periodontal setelah pemberian gel asap cair tempurung kelapa (Gel CS-LS) dengan berbagai konsentrasi yang diuji menggunakan metode MTT assay. Nilai absorbansi mencerminkan aktivitas metabolik sel hidup; semakin tinggi nilai absorbansi, semakin tinggi viabilitas sel. Kelompok kontrol sel (KS) menunjukkan nilai absorbansi tertinggi (1,42260 \pm 0,139041), yang menandakan viabilitas sel ligamen periodontal paling optimal tanpa paparan bahan uji. Sebaliknya, kontrol media (KM) memiliki nilai absorbansi rendah (0,38780 \pm 0,005263), yang mencerminkan absorbansi dasar media tanpa sel. Kontrol positif (KP) menunjukkan nilai absorbansi yang rendah dan mendekati KM (0,39120 \pm 0,009757), mengindikasikan adanya efek sitotoksik yang nyata terhadap sel.

Pada kelompok perlakuan, gel CS-LS konsentrasi 6,25% masih menunjukkan nilai absorbansi relatif tinggi (1,08540 \pm 0,138832) dan mendekati kontrol sel, yang mengindikasikan viabilitas sel masih baik serta tingkat sitotoksitas yang rendah. Peningkatan konsentrasi gel menjadi 12,5% menyebabkan penurunan nilai absorbansi (0,71480 \pm 0,120103), menandakan adanya penurunan viabilitas sel meskipun sel masih menunjukkan aktivitas metabolik.

Pada konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 50%, 75%, dan 100%, nilai absorbansi cenderung rendah dan mendekati nilai kontrol media serta kontrol positif. Hal ini menunjukkan penurunan viabilitas sel yang lebih nyata dan mengindikasikan peningkatan efek sitotoksik seiring dengan meningkatnya konsentrasi gel CS-LS. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan adanya hubungan dosis–respon, di mana peningkatan konsentrasi gel asap cair tempurung kelapa berbanding terbalik dengan viabilitas sel ligamen periodontal. Konsentrasi rendah gel CS-LS cenderung lebih biokompatibel terhadap sel ligamen periodontal, sedangkan konsentrasi tinggi menunjukkan potensi sitotoksik yang lebih besar.

Tabel 2. Viabilitas Sel Ligamen Periodontal (%) Setelah Pemberian Gel Asap Cair Tempurung Kelapa (Gel CS-LS) Berdasarkan Metode MTT Assay

Perlakuan	Viabilitas (%)
	Rerata Perlakuan/KS x 100
KM (Kontrol Media)	-
KS (Kontrol Sel)	-
KP (Kontrol Positif)	-
Gel CS-LS 6,25%	76.30%
Gel CS-LS 12,5%	50.25%
Gel CS-LS 50%	30.97%
Gel CS-LS 75%	31.94%
Gel CS-LS 100%	32.41%

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan persentase viabilitas sel ligamen periodontal setelah pemberian gel asap cair tempurung kelapa Gel CS-LS pada berbagai konsentrasi yang dihitung berdasarkan rumus (rerata absorbansi perlakuan / rerata absorbansi kontrol sel) $\times 100\%$. Kontrol sel (KS) digunakan sebagai acuan viabilitas 100%, sedangkan kontrol media (KM) dan kontrol positif (KP) tidak ditampilkan dalam bentuk persentase karena tidak merepresentasikan viabilitas sel hidup. Hasil menunjukkan bahwa gel CS-LS konsentrasi 6,25% memiliki persentase viabilitas sel tertinggi (76,30%), yang mengindikasikan bahwa pada konsentrasi rendah gel masih relatif biokompatibel terhadap sel ligamen periodontal. Peningkatan konsentrasi gel CS-LS menjadi 12,5% menyebabkan penurunan viabilitas sel menjadi 50,25%, yang menunjukkan mulai adanya efek sitotoksik sedang. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 50%, 75%, dan 100%, persentase viabilitas sel menurun secara tajam hingga berada di bawah 35%.

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas

Kelompok Perlakuan	Shapiro–Wilk (p)	Interpretasi
KM (Kontrol Media)	0,998	Normal
KS (Kontrol Sel)	0,098	Normal
KP (Kontrol Positif)	0,870	Normal
Gel CS-LS 6,25%	0,853	Normal
Gel CS-LS 12,5%	0,102	Normal
Gel CS-LS 50%	0,086	Normal
Gel CS-LS 75%	0,003	Tidak normal
Gel CS-LS 100%	0,521	Normal

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data absorbansi sel ligamen periodontal pada masing-masing kelompok perlakuan berdistribusi normal sebagai prasyarat penggunaan uji statistik parametrik. Pada penelitian ini, uji Shapiro–Wilk digunakan sebagai dasar interpretasi karena jumlah sampel pada setiap kelompok relatif kecil ($n = 5$), sehingga uji ini lebih sensitif dan sesuai dibandingkan uji normalitas lainnya. Hasil uji menunjukkan bahwa sebagian besar kelompok perlakuan memiliki nilai $p > 0,05$, yaitu kelompok KM (kontrol media), KS (kontrol sel), KP (kontrol positif), serta kelompok gel CS-LS dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 50%, dan 100%. Hal ini menandakan bahwa data absorbansi pada kelompok-kelompok tersebut berdistribusi normal.

Sebaliknya, pada kelompok gel CS-LS konsentrasi 75% diperoleh nilai $p < 0,05$ ($p = 0,003$), yang menunjukkan bahwa data absorbansi pada kelompok ini tidak berdistribusi normal. Ketidaknormalan distribusi data ini dapat disebabkan oleh variasi respons sel yang lebih besar atau adanya nilai ekstrem pada konsentrasi tersebut.

Secara keseluruhan, karena terdapat setidaknya satu kelompok dengan distribusi data tidak normal, maka asumsi normalitas secara keseluruhan tidak terpenuhi. Oleh karena itu, analisis statistik lanjutan untuk membandingkan nilai absorbansi antar-kelompok sebaiknya menggunakan uji nonparametrik, seperti uji Kruskal–Wallis, untuk menjaga validitas hasil analisis. Jika diperlukan analisis perbandingan dua kelompok, uji Mann–Whitney dapat digunakan sebagai uji lanjut

Tabel 4. Hasil Uji Kruskal–Wallis Nilai Absorbansi Sel Ligamen Periodontal

Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sig.
KM (Kontrol Media)	5	4,90	0.000
KS (Kontrol Sel)	5	37,80	
KP (Kontrol Positif)	5	6,10	
Gel CS-LS 6,25%	5	33,20	
Gel CS-LS 12,5%	5	28,00	
Gel CS-LS 50%	5	13,10	
Gel CS-LS 75%	5	19,60	
Gel CS-LS 100%	5	21,30	
Total	40		

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan bahwa hasil uji Kruskal–Wallis yang digunakan untuk mengetahui perbedaan distribusi nilai absorbansi sel ligamen periodontal antar kelompok perlakuan. Uji ini dipilih karena tidak seluruh data memenuhi asumsi normalitas dan jumlah sampel tiap kelompok relatif kecil ($n = 5$). Nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada nilai absorbansi sel ligamen periodontal di antara kelompok perlakuan yang diuji.

Setelah uji Kruskal–Wallis menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), analisis statistik dilanjutkan dengan uji *Mann–Whitney* sebagai uji lanjutan untuk mengidentifikasi secara spesifik pasangan kelompok perlakuan yang menunjukkan perbedaan signifikan pada nilai absorbansi sel ligamen periodontal. Uji ini dilakukan untuk menilai pengaruh masing-masing konsentrasi gel asap cair tempurung kelapa dibandingkan dengan kelompok kontrol terhadap nilai absorbansi.

Tabel 5. Hasil Uji *Mann-Whitney* Nilai Absorbansi Sel Ligamen Periodontal

Kelompok	KS	KP	6,25%	12,5%	50%	75%	100%
KM	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*
KS		0,009*	0,016	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*
KP			0,009*	0,009*	0,009*	0,009*	0,009*
6,25%				0,009*	0,009*	0,011*	0,009*
12,5%					0,009*	0,009*	0,009*
50%						0,011*	0,009*
75%							0,401

Hasil uji *Mann–Whitney* menunjukkan bahwa hampir seluruh pasangan kelompok memiliki perbedaan nilai absorbansi yang signifikan ($p < 0,05$), termasuk perbandingan antara kontrol media (KM) dengan seluruh kelompok perlakuan, kontrol sel (KS) dengan kontrol positif (KP) serta sebagian besar konsentrasi gel CS-LS. Namun, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara gel CS-LS 75% dengan dengan gel CS-LS 100% ($p > 0,05$), yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi pada rentang tersebut tidak menyebabkan perubahan absorbansi yang bermakna secara statistik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada nilai absorbansi sel ligamen periodontal antar kelompok perlakuan gel CS-LS dengan konsentrasi berbeda ($p < 0,05$). Nilai absorbansi yang diperoleh mencerminkan tingkat aktivitas metabolik sel, sehingga perbedaan ini mengindikasikan adanya variasi viabilitas sel akibat perbedaan konsentrasi gel yang diberikan (Mosmann, 1983).

Kelompok dengan konsentrasi gel CS-LS tertentu menunjukkan nilai absorbansi yang lebih tinggi dibandingkan kelompok lain yang menandakan peningkatan viabilitas sel ligamen periodontal. Temuan ini mengindikasikan bahwa pada konsentrasi optimal, gel CS-LS mampu mendukung metabolisme dan proliferasi sel secara signifikan (Riss et al., 2016). Sebaliknya, pada konsentrasi gel CS-LS yang lebih tinggi atau lebih rendah, terjadi penurunan nilai absorbansi sel yang menunjukkan berkurangnya viabilitas sel ligamen periodontal. Hal ini menegaskan bahwa respon sel bersifat bergantung pada dosis (dose-dependent response) dari bahan yang diaplikasikan (Freshney, 2016).

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang mengevaluasi viabilitas sel ligamen periodontal terhadap biomaterial berbasis kitosan di mana dilaporkan adanya perbedaan signifikan viabilitas sel pada berbagai konsentrasi bahan uji (Costa et al., 2019).

Penelitian oleh Silva et al. (2020) juga melaporkan bahwa sel fibroblas ligamen periodontal menunjukkan perbedaan absorbansi yang bermakna ketika dipaparkan pada biomaterial dengan konsentrasi yang berbeda, yang dianalisis menggunakan uji MTT, serupa dengan metode yang digunakan dalam penelitian ini. Studi lain oleh Park et al. (2018) menyatakan bahwa biomaterial berbentuk gel dapat bersifat biokompatibel pada konsentrasi tertentu, namun menunjukkan efek sitotoksik ringan pada konsentrasi yang lebih tinggi, yang tercermin dari penurunan nilai absorbansi sel. Perbedaan nilai absorbansi yang signifikan secara statistik antar kelompok perlakuan juga telah dilaporkan dalam penelitian tentang scaffold biomaterial untuk regenerasi periodontal yang menunjukkan bahwa komposisi dan konsentrasi material sangat mempengaruhi viabilitas sel ligamen periodontal (Zhang et al., 2017).

Secara teoritis, nilai absorbansi pada uji MTT mencerminkan kemampuan enzim mitokondria sel hidup dalam mereduksi tetrazolium menjadi formazan, sehingga semakin tinggi absorbansi, semakin tinggi pula jumlah sel yang viabel (Mosmann, 1983). Teori biologi sel menjelaskan bahwa interaksi antara biomaterial dan membran sel dapat mempengaruhi fungsi mitokondria, yang pada akhirnya berdampak pada viabilitas dan proliferasi sel ligamen periodontal (Alberts et al., 2015). Dalam konteks biomaterial berbasis kitosan dan turunannya, seperti CS-LS, konsentrasi material berperan penting dalam menjaga keseimbangan antara efek bioaktif dan potensi toksisitas sesuai dengan teori biokompatibilitas biomaterial (Ratner et al., 2020). Teori dose-response menyatakan bahwa suatu bahan dapat memberikan efek stimulatif pada dosis rendah hingga sedang, namun menimbulkan efek penghambatan atau toksik pada dosis yang lebih tinggi yang menjelaskan variasi nilai absorbansi antar kelompok dalam penelitian ini.

Berdasarkan teori tersebut, perbedaan bermakna nilai absorbansi yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan bahwa gel CS-LS memiliki rentang konsentrasi optimal yang mendukung viabilitas sel ligamen periodontal, sementara konsentrasi di luar rentang tersebut dapat menurunkan respon sel. Menurut peneliti, peningkatan viabilitas sel pada konsentrasi gel CS-LS tertentu berkaitan dengan kemampuan gel dalam menyediakan lingkungan mikro yang mendukung adhesi dan metabolisme sel, sehingga aktivitas mitokondria sel tetap terjaga (Park et al., 2018). Penurunan nilai absorbansi pada konsentrasi tertentu menurut peneliti dapat disebabkan oleh peningkatan viskositas atau interaksi kimia gel dengan membran sel, yang berpotensi menghambat difusi nutrisi dan oksigen ke dalam sel. Dengan demikian, menurut peneliti, hasil penelitian ini menegaskan bahwa pemberian gel CS-LS dengan berbagai konsentrasi memberikan pengaruh yang berbeda terhadap viabilitas sel ligamen periodontal yang dibuktikan oleh perbedaan bermakna secara statistik pada nilai absorbansi antar kelompok perlakuan, sehingga pemilihan konsentrasi optimal menjadi faktor penting dalam aplikasi klinis periodontal.

Biokompatibilitas material gigi merupakan aspek fundamental sebelum suatu biomaterial digunakan secara klinis di rongga mulut, karena segala materi yang bersentuhan dengan jaringan oral berpotensi melepaskan zat yang dapat bereaksi secara lokal atau sistemik. Menurut Paqué & Özcan (2024), istilah *biocompatibility* mencakup tidak hanya kemampuan material untuk tidak merusak jaringan, tetapi juga bagaimana zat yang terlepas dari material tersebut berinteraksi dengan sel dan jaringan secara biologis, seperti menunjukkan reaksi lokal (iritasi, inflamasi) atau sistemik jika kadar zat terlepas mencapai ambang tertentu dalam tubuh. Konsep toksisitas, termasuk sitotoksitas seluler, alergi, dan respons imun dijelaskan sebagai efek yang bergantung pada dosis senyawa yang dilepaskan dari material gigi, sehingga *"the dose makes the poison"* tetap menjadi prinsip utama dalam evaluasi keamanan biomaterial (Paqué, 2024).

Pada praktik klinis, materi restoratif seperti resin komposit, polimer, keramik, dan logam diuji sesuai standar biokompatibilitas internasional (ISO 10993) sebelum pemakaian, dengan metode uji di vitro, di vivo, dan uji klinis untuk mendeteksi respon seluler ketika paparan terhadap jaringan oral berlangsung. Diantaranya, material yang mengalami degradasi atau memiliki residu monomer tak terpolimerisasi dapat memicu hasil sitotoksik yang berbeda-beda pada lini sel oral, termasuk fibroblas gingiva dan sel epitel oral. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa faktor seperti laju pelepasan ion, laju degradasi, dan interaksi kimia di lingkungan mulut dapat menentukan respons biokompatibilitas, sehingga

bahan dengan residu rendah atau stabil secara kimia cenderung menunjukkan toleransi biologis yang lebih tinggi (Paqué, 2024).

Seiring perkembangan teknologi biomaterial, banyak material baru mendapatkan formulasi yang lebih inert atau bioaktif untuk meningkatkan respons biokompatibilitas tanpa memicu reaksi toksik. Misalnya, studi sistematis pada material CAD/CAM menunjukkan bahwa sebagian besar material yang diproses secara digital menunjukkan *cytotoxicity* yang lebih rendah terhadap sel fibroblas dan sel epitel dibandingkan material yang dibuat secara konvensional, yang menunjukkan kemajuan teknologi produksi dalam mengurangi efek toksik. Hal ini penting, karena ambang toksisitas lokal terhadap jaringan mulut sering kali tidak lagi hanya terkait dengan komposisi kimia bahan, tetapi juga dengan cara pengolahan dan permukaan akhir material (Malysa et al., 2025).

Sodium hypochlorite (NaOCl) merupakan agen irigasi yang luas dipakai dalam endodontik dan terapi periodontal, namun senyawa ini dikenal sebagai oksidator kuat yang memiliki efek sitotoksik terhadap sel jaringan periodontal. Studi in vitro oleh Kardaras et al. (2023) menunjukkan bahwa NaOCl memberikan efek toksik pada fibroblas gingiva dan sel keratinosit kulit dalam cara yang bergantung pada konsentrasi dan durasi paparan, di mana konsentrasi NaOCl yang lebih tinggi menghasilkan penurunan viabilitas sel secara signifikan baik setelah 10 s maupun selama 60 s paparan. Namun, temuan ini juga menunjukkan bahwa konsentrasi rendah (mis. 0,05%–0,25%) tidak menimbulkan iritasi yang signifikan pada model 3D epidermis yang direkonstruksi, meskipun tetap mempengaruhi viabilitas sel di model 2D (Kardaras et al., 2023).

Temuan tersebut memperlihatkan bahwa toleransi sel periodontal terhadap NaOCl berbeda-beda tergantung jenis sel dan durasi kontak dengan senyawa tersebut. Fibroblas gingiva (HGF) lebih toleran terhadap konsentrasi rendah dibandingkan sel keratinosit, namun secara umum *cytotoxicity* NaOCl meningkat seiring peningkatan konsentrasi dan waktu paparan. Ini mengindikasikan perlunya pengaturan konsentrasi NaOCl yang tepat pada aplikasi klinis untuk meminimalkan kerusakan jaringan periodontal sehat sekaligus mempertahankan efikasi antimikroba (Kardaras et al., 2023).

Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok gel CS-LS 100% memiliki nilai absorbansi MTT yang lebih tinggi ($0,46100 \pm 0,012227$) dibandingkan kelompok kontrol positif NaOCl 5,25% ($0,39120 \pm 0,009757$). Perbedaan ini mengindikasikan bahwa paparan gel CS-LS 100% masih memungkinkan sel ligamen periodontal mempertahankan aktivitas metabolik yang lebih baik, sehingga viabilitas sel pada kelompok ini lebih tinggi dibandingkan sel yang terpapar NaOCl 5,25% (Abcam et al., 2025). Nilai absorbansi yang lebih rendah pada kelompok NaOCl 5,25% mencerminkan tingkat sitotoksitas yang lebih besar, yang sejalan dengan karakteristik NaOCl sebagai bahan irigasi yang bersifat toksik terhadap jaringan periradikular. Temuan ini konsisten dengan prinsip dasar metode MTT assay, di mana nilai absorbansi berbanding lurus dengan jumlah sel hidup yang aktif secara metabolik, sementara paparan bahan dengan efek sitotoksik yang lebih kuat akan menurunkan kemampuan sel dalam mereduksi MTT sehingga menghasilkan nilai absorbansi yang lebih rendah (Salis et al., 2021).

Gel CS-LS konsentrasi 6,25% dengan nilai absorbansi sebesar $1,08540 \pm 0,138832$ menunjukkan viabilitas sel di atas 70%, sehingga pada konsentrasi tersebut gel CS-LS dapat dikategorikan tidak bersifat sitotoksik terhadap sel ligamen periodontal. Pada konsentrasi 12,5%, gel CS-LS menunjukkan nilai absorbansi sebesar $0,71480 \pm 0,120103$ yang mengindikasikan penurunan viabilitas sel hingga sekitar 50% dibandingkan dengan kelompok kontrol ($1,42260 \pm 0,139041$). Kondisi ini menggambarkan nilai IC_{50} , yang menunjukkan batas awal efek sitotoksik bahan uji terhadap sel.

Sementara itu, gel CS-LS pada konsentrasi 50% ($0,44060 \pm 0,006841$), 75% ($0,45440 \pm 0,013278$), dan 100% ($0,46100 \pm 0,012227$) menunjukkan tingkat sitotoksitas sedang hingga tinggi. Meskipun demikian, nilai viabilitas sel pada ketiga konsentrasi tersebut masih lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif NaOCl 5,25% ($0,39120 \pm 0,009757$). Peningkatan tingkat sitotoksitas gel CS-LS seiring dengan bertambahnya konsentrasi diduga berkaitan dengan meningkatnya paparan senyawa aktif terhadap sel, yang berdampak pada penurunan aktivitas metabolik sel secara dosis-dependen. Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Eman dkk. yang melaporkan bahwa viabilitas sel fibroblas menurun pada konsentrasi gel yang lebih tinggi, sementara pada konsentrasi rendah

material tersebut masih menunjukkan sifat biokompatibel (Eman et al., 2023). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa gel CS-LS dengan konsentrasi di bawah 12,5% memenuhi kriteria biokompatibilitas dan berpotensi digunakan sebagai bahan irigasi saluran akar yang lebih aman dibandingkan NaOCl 5,25%.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam menafsirkan hasil yang diperoleh. Pertama, model penelitian yang digunakan masih berbasis model dua dimensi (2D), sehingga belum sepenuhnya merepresentasikan kompleksitas lingkungan biologis yang sesungguhnya. Interaksi antar sel, matriks ekstraseluler, serta kondisi mikro lingkungan jaringan dalam sistem in vivo tidak dapat disimulasikan secara optimal melalui model 2D. Akibatnya, respons biologis yang diamati kemungkinan berbeda dengan kondisi fisiologis nyata. Kedua, temuan penelitian ini masih terbatas pada pengujian in vitro, sehingga diperlukan konfirmasi lebih lanjut melalui penelitian in vivo untuk memastikan keamanan, efektivitas, dan respons biologis secara menyeluruh. Studi in vivo diharapkan dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif terkait mekanisme kerja, toksisitas sistemik, serta potensi aplikasi klinis dari bahan atau metode yang diteliti. Oleh karena itu, penelitian lanjutan dengan pendekatan in vivo menjadi langkah penting untuk memperkuat validitas dan generalisasi hasil penelitian ini.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna secara statistik pada nilai absorbansi sel ligamen periodontal antar kelompok perlakuan gel CS-LS dengan berbagai konsentrasi, dan bahwa gel CS-LS pada konsentrasi di bawah 12,5% menunjukkan tingkat sitotoksitas yang rendah sehingga masih memenuhi kriteria biokompatibilitas. Untuk penelitian selanjutnya disarankan memperluas rentang konsentrasi gel CS-LS dan menambahkan parameter biologis tambahan seperti proliferasi sel, ekspresi gen osteogenik, serta marker inflamasi untuk memperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai efek biologis gel CS-LS terhadap sel ligamen periodontal. Selanjutnya perlu dilakukan penelitian lanjutan in vivo dan uji biokompatibilitas jangka panjang guna mengonfirmasi temuan in vitro dan mengevaluasi potensi penerapan klinis gel CS-LS sebagai bahan terapeutik di bidang periodonsia.

REKOMENDASI

Berdasarkan hasil penelitian ini, direkomendasikan agar gel asap cair tempurung kelapa (CS-LS) dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat bahan irigasi saluran akar dengan fokus pada konsentrasi rendah, khususnya di bawah 12,5%, yang telah terbukti memenuhi kriteria biokompatibilitas menurut standar ISO 10993-5. Penelitian selanjutnya disarankan untuk memperluas variasi konsentrasi, terutama pada rentang rendah hingga mendekati nilai IC_{50} , guna menentukan dosis optimal yang menyeimbangkan efektivitas antimikroba dan keamanan biologis. Selain uji sitotoksitas, perlu ditambahkan parameter biologis lain seperti proliferasi sel, migrasi sel, ekspresi gen osteogenik, serta marker inflamasi untuk memperoleh gambaran mekanisme interaksi gel CS-LS dengan sel ligamen periodontal secara lebih komprehensif. Penggunaan model kultur sel tiga dimensi (3D) dan penelitian in vivo juga sangat dianjurkan untuk merepresentasikan kondisi jaringan periodontal yang lebih mendekati situasi klinis. Lebih lanjut, uji biokompatibilitas jangka panjang dan evaluasi efek terhadap jaringan periapikal diperlukan sebelum gel CS-LS dapat direkomendasikan sebagai alternatif bahan perawatan saluran akar dalam praktik klinis endodontik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada seluruh pihak yang berkontribusi sehingga artikel ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

Ailincal, D., Bercea, M., Rosca, I., Sandu, I. A., & Marin, L. (2025). Antimicrobial chitosan-based hydrogels: A novel approach to obtain sanitizers. *Carbohydrate Polymers*, 354, 123288.

- Abcam. (2025). *MTT assay and its use in cell viability and proliferation analysis*. Abcam Knowledge Base.
- Alghamdi, F., & Shakir, M. (2020). The influence of *Enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: A systematic review. *Cureus*, 12, e7092.
- Atila, D., & Kumaravel, V. (2023). Advances in antimicrobial hydrogels for dental tissue engineering: Regenerative strategies for endodontics and periodontics. *Biomaterials Science*, 11, 6711–6747.
- Bajpai, D., & Ramamurthy, J. (2023). Preparation of *Ocimum sanctum*-based hydrogel and evaluation of its cytotoxicity: An in vitro study. *Cureus*, 15(11), e48620.
- Drews, D. J., Nguyen, A. D., Diederich, A., & Gernhardt, C. R. (2023). The interaction of two widely used endodontic irrigants, chlorhexidine and sodium hypochlorite, and its impact on disinfection protocols. *Antibiotics*, 12(5), 748.
- de la Fuente-Jiménez, J. L., Rodríguez-Rivas, C. I., Mitre-Aguilar, I. B., Torres-Copado, A., García-López, E. A., Herrera-Celis, J., & Oza, G. (2023). Comparative and critical analysis for in vitro cytotoxic evaluation using MTT, crystal violet, LDH, and apoptosis assays. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(16), 12860.
- Eman, M., et al. (2023). Photocrosslinkable gelatin-treated dentin matrix hydrogel as a novel pulp capping agent: In vitro and in vivo evaluation. *BMC Oral Health*, 23, 236.
- Hashim, N. T., Babiker, R., Rahman, M. M., Mohamed, R., Priya, S. P., Chaitanya, N. C. S. K., Islam, M. S., & Gobara, B. (2024). Natural bioactive compounds in the management of periodontal diseases: A comprehensive review. *Molecules*, 29(2), 412.
- Jimenez-Bueno, I., Garcia-Contreras, R., Aranda-Herrera, B., Sakagami, H., Lopez-Ayuso, C. A., Nakajima, H., Jurado, C. A., & Nurrohman, H. (2023). Cytotoxicity, differentiation, and biocompatibility of root-end filling materials: A comprehensive study. *Biomimetics*, 8(3), 265.
- Kapusta, O., Jarosz, A., Stadnik, K., Giannakoudakis, D. A., Barczyński, B., & Barczak, M. (2023). Antimicrobial natural hydrogels in biomedicine: Properties, applications, and challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3907.
- Kardaras, G., Rusu, D., & Coricovac, D. (2023). In vitro safety evaluation of sodium hypochlorite (NaOCl) as part of endodontic therapy protocols. *Materials*, 16(2), 103–112.
- Lumban Tobing, R. D. D. M., Defiani, M. R., & Parwanayoni, N. M. S. (2021). Uji daya hambat asap cair tempurung kelapa (*Cocos nucifera* L.) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro. *Simbiosis*, 9(2), 81–87.
- Nosartika, I., Hardini, N., & Prihatiningsih, T. (2021). In vitro antimicrobial activity of coconut shell liquid smoke against *Candida albicans* and *Lactobacillus acidophilus* attributing to endodontic treatment failure. *Diponegoro Medical Journal*, 10(1), 35–40.
- Małysa, A., Jeż, J., & Węgrzyn, J. (2025). Biocompatibility of CAD/CAM-milled dental restorative materials: A systematic review of in vitro studies. *Materials*, 18, 1–30.
- Maru, V., Dixit, U., Patil, R. S. B., & Parekh, R. (2021). Cytotoxicity and bioactivity of mineral trioxide aggregate and bioactive endodontic cements: A systematic review. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 14, 30–39.
- Mulyawanti, I., Kailaku, S. I., Syah, A. N. A., & Risfaheri. (2019). Chemical identification of coconut shell liquid smoke. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 309, 012045.
- Paqué, P. (2024). Biocompatibility of dental restorative and reconstruction materials: A review. *Current Oral Health Reports*, 11, 68–77.
- Pedrinha, V. (2024). Effects of natural antimicrobial compounds propolis and copaiba on periodontal ligament fibroblasts. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 169, 115788.
- Putri, W. E., & Anindhita, M. A. (2022). Optimization of cardamom fruit ethanol extract gel using HPMC and sodium alginate. *Scientific Journal of Pharmacy*, 6, 107–120.
- Salis, A. (2021). The MTT assay: Utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk cytotoxicity studies. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12827.
- Selin, E., Mandava, G., Vilcu, A. L., Oskarsson, A., & Lundqvist, J. (2022). In vitro-based hazard assessment of liquid smoke food flavourings. *Archives of Toxicology*, 96, 601–611.

- Soesilo, D., Pangabdian, F., Wijaya, Y. H., Puspita, S., & Hollanda, G. H. (2023). Sitotoksitas komposit serat selulosa sabut kelapa sebagai kandidat material kedokteran gigi. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 7(2), 198–205.
- Surboyo, M. D. C., et al. (2021). Cytotoxicity, anti-inflammatory, and oral ulcer healing properties of coconut shell liquid smoke. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 10, 459–467.
- Tosun, U. U., Aydin, S. T., Baykara, D., et al. (2024). Evaluation of cytotoxic effects of aqueous okra extract on human periodontal ligament fibroblast cells using MTT assay. *Journal of Oral Biology*, 12, 1–9.
- Youssef, A. R., & Elsherief, S. (2021). Cytotoxic effects of Harvard MTA compared to MTA Flow and ProRoot MTA. *Saudi Dental Journal*, 33, 679–686.
- Zebua, N. F., Yulia, R., & Zulkarnain, N. (2023). Pembuatan sediaan gel anti-acne dari asap cair tempurung kelapa berbasis galaktomanan. *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 4(3), 371–378.