



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

Gel asap cair tempurung kelapa merupakan produk turunan biomassa alami hasil pirolisis tempurung kelapa yang mengandung senyawa fenolik, asam organik, dan karbonil, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar. Namun, informasi mengenai biokompatibilitas gel asap cair tempurung kelapa terhadap jaringan periodontal masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sitotoksitas gel asap cair tempurung kelapa (CS-LS) terhadap sel ligamen periodontal (PDL cells) menggunakan metode MTT assay. Penelitian eksperimental in vitro ini melibatkan tujuh kelompok perlakuan, yaitu kontrol media, kontrol sel, kontrol positif NaOCl 5,25%, serta gel CS-LS pada konsentrasi 6,25%; 12,5%; 50%; 75%; dan 100%, masing-masing dengan lima replikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok kontrol media memiliki rata-rata nilai absorbansi sebesar $0,3878 \pm 0,0053$, kontrol sel sebesar $1,4226 \pm 0,1390$, dan kontrol positif NaOCl 5,25% sebesar $0,3912 \pm 0,0098$. Pada kelompok perlakuan gel CS-LS, konsentrasi 6,25% menunjukkan rata-rata absorbansi sebesar $1,0854 \pm 0,1388$, konsentrasi 12,5% sebesar $0,7148 \pm 0,1201$, konsentrasi 50% sebesar $0,4406 \pm 0,0068$, konsentrasi 75% sebesar $0,4544 \pm 0,0133$, dan konsentrasi 100% sebesar $0,4610 \pm 0,0122$. Analisis statistik menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Gel CS-LS konsentrasi 6,25% mempertahankan viabilitas sel tertinggi dan tergolong tidak sitotoksik berdasarkan kriteria ISO (viabilitas $\geq 70\%$ menurut ISO 10993-5), sedangkan peningkatan konsentrasi menyebabkan penurunan viabilitas sel secara bertahap dan bersifat dosis-dipenden. Disimpulkan bahwa gel asap cair tempurung kelapa pada konsentrasi rendah memiliki biokompatibilitas yang baik terhadap sel ligamen periodontal dan berpotensi dikembangkan sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar, sementara peningkatan konsentrasi menunjukkan efek sitotoksik.

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

Coconut shell liquid smoke gel is a natural biomass-derived product obtained through the pyrolysis of coconut shells and contains phenolic compounds, organic acids, and carbonyls, making it a potential alternative root canal irrigant. However, information regarding the biocompatibility of coconut shell liquid smoke gel with periodontal tissues remains limited. This study aimed to evaluate the cytotoxicity of coconut shell liquid smoke gel (CS-LS) on periodontal ligament (PDL) cells using the MTT assay. This in vitro experimental study involved seven treatment groups, namely media control, cell control, positive control (5.25% sodium hypochlorite), and CS-LS gel at concentrations of 6.25%, 12.5%, 50%, 75%, and 100%, with five replicates in each group. The results showed that the media control group exhibited a mean absorbance value of 0.3878 ± 0.0053 , the cell control group 1.4226 ± 0.1390 , and the positive control group (5.25% sodium hypochlorite) 0.3912 ± 0.0098 . In the CS-LS treatment groups, mean absorbance values were 1.0854 ± 0.1388 at 6.25%, 0.7148 ± 0.1201 at 12.5%, 0.4406 ± 0.0068 at 50%, 0.4544 ± 0.0133 at 75%, and 0.4610 ± 0.0122 at 100%. Statistical analysis revealed significant differences among treatment groups ($p < 0.05$). The CS-LS gel at a concentration of 6.25% maintained the highest cell viability and was classified as non-cytotoxic according to ISO criteria (viability $\geq 70\%$, based on ISO 10993-5), whereas increasing concentrations resulted in a gradual, dose-dependent reduction in cell viability. In conclusion, coconut shell liquid smoke gel at low concentrations demonstrates good biocompatibility with periodontal ligament cells and shows potential as an alternative root canal irrigant, while higher concentrations exhibit cytotoxic effects.

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>





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 & 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 periapical (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 & 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 sintesis 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 & 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 Surboy (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 (Surboy 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.

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 (Din et al., 2024). 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 (Stindlova et al., 2024). 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.

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 (Ayu, 2025). 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 (Anggrainy & Firawati, 2025).

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 (Zhao et al., 2025). 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 (Youssef, 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 (Sumule et al., 2021).

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 $p < 0,05$.

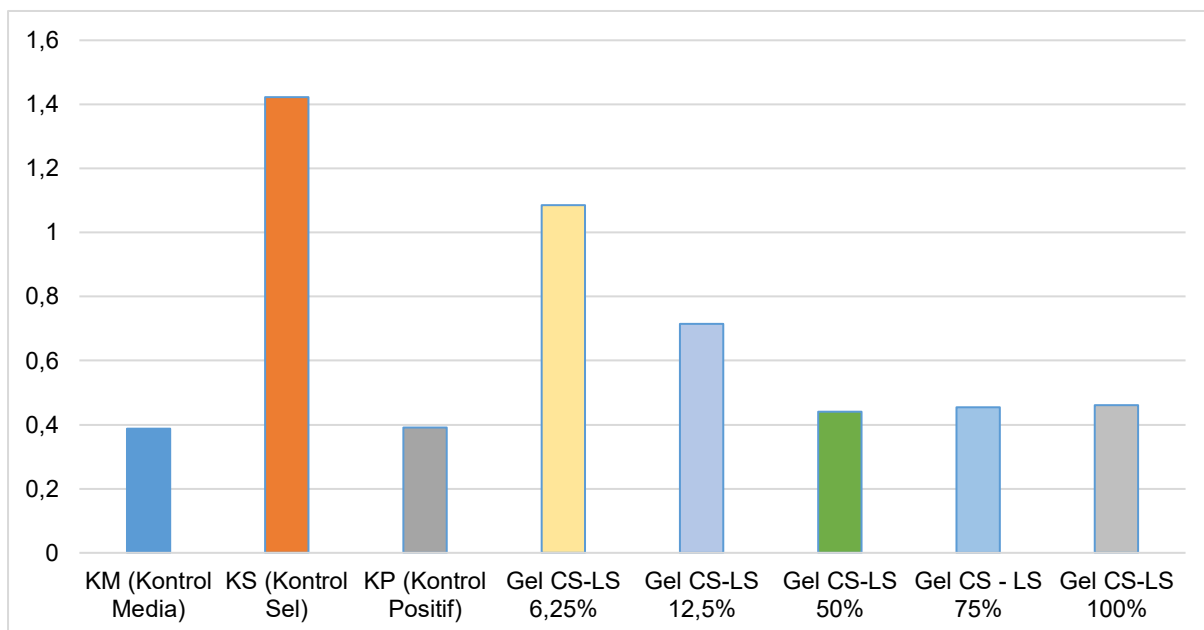
HASIL DAN PEMBAHASAN

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

Kelompok Perlakuan	Mean $\pm$ SD Absorbansi	N
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	<i>Shapiro–Wilk (p)</i>	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	

Kelompok Perlakuan	N	Mean Rank	Sig.
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

***terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)**

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.

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).

Gel asap cair tempurung kelapa (CS-LS) berpotensi digunakan sebagai bahan irigasi pada perawatan saluran akar karena kandungan kimiawinya yang mampu memodifikasi permukaan dentin dan menekan pertumbuhan mikroorganisme. Asam asetat dan asam karboksilat yang terkandung dalam asap cair memberikan sifat asam, sehingga bertindak sebagai *chelating agent* yang mengikat ion kalsium pada hidroksiapatit dentin, memfasilitasi pelepasan *smear layer* dan debris (Kardakas et al., 2021). Studi yang meneliti efek CS-LS pada dinding saluran akar melaporkan bahwa pemberian gel ini mampu mengurangi *smear layer* dan debris. Bentuk sediaan gel pada CS-LS kemungkinan berkontribusi terhadap peningkatan kinerjanya dengan meningkatkan viskositas dan durasi kontak pada dinding saluran akar. Peningkatan viskositas tersebut dapat memperbaiki retensi bahan dalam saluran akar serta meningkatkan interaksi dengan permukaan dentin, yang pada akhirnya dapat membantu proses eliminasi *smear layer* dan debris (Setiawan et al., 2025a)

Dalam konteks penelitian ini, fokus ditempatkan pada sitotoksitas gel CS-LS terhadap sel ligamen periodontal. Meskipun gel CS-LS efektif secara klinis dalam membersihkan saluran akar, penting untuk memastikan bahwa bahan irigasi ini tidak bersifat toksik terhadap sel periodontal. Analisis sitotoksitas menggunakan metode *MTT assay* memungkinkan penilaian viabilitas sel setelah paparan gel. Hasil penelitian sebelumnya juga menunjukkan

bahwa konsentrasi CS-LS tertentu dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti *Candida albicans* dan *Enterococcus faecalis* (Setiawan et al., 2025b)

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). 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). 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. 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 dapat disebabkan oleh peningkatan viskositas atau interaksi kimia gel dengan membran sel, yang berpotensi menghambat difusi nutrisi dan oksigen ke dalam sel. 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 syarat utama sebelum biomaterial dipakai klinik di rongga mulut karena setiap bahan yang kontak dengan jaringan oral dapat melepaskan zat berpotensi bereaksi secara lokal atau sistemik (Praqash et al., 2024). Efek toksisitas seperti sitotoksitas, alergi, dan respons imun sangat bergantung dosis senyawa yang dilepaskan dari material, sehingga prinsip '*the dose makes the poison*' menjadi landasan evaluasi keamanan (Paque et al., 2024). 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). 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 ringan sampai sedang. 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).

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). 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%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik pada nilai absorbansi sel ligamen periodontal antar kelompok perlakuan gel CS-LS dengan berbagai konsentrasi. Gel CS-LS pada konsentrasi di bawah 12,5% menunjukkan tingkat sitotoksitas yang rendah sehingga masih memenuhi kriteria biokompatibilitas dan berpotensi aman digunakan dalam aplikasi kedokteran gigi. Selanjutnya, perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vivo* serta uji biokompatibilitas jangka panjang untuk mengonfirmasi temuan yang diperoleh dari penelitian *in vitro*, sekaligus mengevaluasi secara lebih komprehensif aspek keamanan, efektivitas biologis, respon jaringan, serta potensi efek samping yang mungkin timbul dalam penggunaan klinis.

REKOMENDASI

Berdasarkan temuan penelitian ini, gel asap cair tempurung kelapa (CS-LS) direkomendasikan untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat bahan irigasi saluran

akar atau bahan terapeutik pendukung dalam bidang endodontik dan periodonsia. Pengembangan tersebut sebaiknya difokuskan pada penggunaan konsentrasi rendah, khususnya di bawah 12,5%, karena pada rentang konsentrasi tersebut gel CS-LS telah terbukti memenuhi kriteria biokompatibilitas berdasarkan standar ISO 10993-5 dan menunjukkan tingkat sitotoksitas yang rendah terhadap sel ligamen periodontal. Fokus pada konsentrasi rendah menjadi penting untuk meminimalkan risiko efek toksik sekaligus mempertahankan potensi manfaat biologis dari senyawa aktif yang terkandung di dalam asap cair tempurung kelapa.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk memperluas variasi konsentrasi gel CS-LS, terutama pada rentang konsentrasi rendah hingga mendekati nilai IC_{50} . Pendekatan ini bertujuan untuk menentukan dosis optimal yang mampu menyeimbangkan antara efektivitas antimikroba dan keamanan biologis. Dengan demikian, gel CS-LS dapat dikembangkan sebagai bahan yang tidak hanya aman bagi jaringan periodontal, tetapi juga efektif dalam mengendalikan mikroorganisme penyebab infeksi saluran akar.

Selain uji sitotoksitas, disarankan agar penelitian berikutnya menambahkan parameter biologis lain yang lebih komprehensif, seperti proliferasi dan migrasi sel, ekspresi gen osteogenik, serta marker inflamasi. Parameter-parameter tersebut penting untuk memahami mekanisme interaksi gel CS-LS dengan sel ligamen periodontal, termasuk potensi perannya dalam proses regenerasi jaringan dan modulasi respons inflamasi. Penggunaan model kultur sel tiga dimensi (3D) juga sangat dianjurkan karena mampu merepresentasikan kondisi mikro-lingkungan jaringan periodontal yang lebih mendekati situasi in vivo dibandingkan model dua dimensi.

Lebih lanjut, penelitian in vivo perlu dilakukan untuk mengevaluasi respons jaringan periodontal dan periapikal secara menyeluruh, termasuk kemungkinan efek sistemik dan biokompatibilitas jangka panjang. Uji lanjutan ini menjadi tahap krusial sebelum gel CS-LS dapat direkomendasikan untuk penggunaan klinis. Dengan pendekatan penelitian yang berkelanjutan dan multidisipliner, gel CS-LS berpotensi menjadi alternatif bahan perawatan saluran akar yang berbasis sumber daya alam, aman, efektif, dan berkelanjutan dalam praktik klinis endodontik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan selama proses pelaksanaan penelitian hingga penyusunan artikel ini. Apresiasi khusus disampaikan kepada Program Studi Sarjana Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, atas dukungan akademik dan administratif yang diberikan selama penelitian berlangsung. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada Laboratorium Terpadu Universitas Gadjah Mada dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Prima Indonesia Medan yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian, khususnya dalam penggunaan sarana, bahan, dan instrumen laboratorium yang diperlukan dalam pengujian sitotoksitas dengan metode MTT assay.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada para dosen pembimbing, tenaga laboratorium, serta seluruh staf yang telah memberikan arahan, bantuan teknis, dan masukan ilmiah selama proses penelitian ini. Bantuan tersebut sangat berarti, terutama dalam tahap persiapan sampel, pelaksanaan kultur sel, pengukuran absorbansi, serta pengolahan dan interpretasi data penelitian. Penulis juga menghargai dukungan rekan-rekan sejawat yang telah memberikan semangat, diskusi akademik, dan saran konstruktif sehingga naskah ini dapat disusun dengan lebih baik.

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(January), 123288. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.123288>
- Alghamdi, F., & Shakir, M. (2020). The Influence of *Enterococcus faecalis* as a Dental Root Canal Pathogen on Endodontic Treatment: A Systematic Review. *Cureus*, 12(3), 1–10. <https://doi.org/10.7759/cureus.7257>
- Anggrainy, H., & Firawati, F. (2025). Uji Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Daun Keladi Tikus

- (Typhonium divaricatum (L). Dence.) Terhadap Staphylococcus aureus. Jurnal Kesehatan Qamarul Huda, 13(1), 30-34.
- Ayu Fitria, V. (2025). Optimasi Carbopol 940 dan Trietanolamin dalam Formula Pasta Gigi Gel Ekstrak Daun Binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) dan Uji Aktivitas Antibakteri (Doctoral dissertation, Universitas Jambi).
- Din, S. U., Ounjai, P., Chairoungdua, A., & Surareungchai, W. (2024). CO₂-Free On-Stage Incubator for Live Cell Imaging of Cholangiocarcinoma Cell Migration on Microfluidic Device. *Methods and Protocols*, 7(5), 69.
- 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 the Disinfection Protocol during Root Canal Treatment. *Antibiotics*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030589>
- 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: A Comprehensive Study. *Biomimetics*, 8(7). <https://doi.org/10.3390/biomimetics8070514>
- Kardaras, G., Rusu, D., & Coricovac, D. (2023). *In-Vitro Safety Evaluation of Sodium Hypochlorite (NaOCl) as Part of Step 2 and Maintenance Therapy Protocols in*. 103–112. <https://doi.org/10.3290/j.ohpd.b4009557>
- Lumban Tobing, R. D. D. M., Defiani, M. R., & Susun Parwanayoni, N. M. (2021). Uji Daya Hambat Asap Cair Tempurung Kelapa (Cocos nucifera L.) Terhadap Pertumbuhan Escherichia coli Secara In Vitro. *Simbiosis*, 9(2), 81. <https://doi.org/10.24843/jsimbiosis.2021.v09.i02.p03>
- Malysa, A., Jen, J., & We, J. (2025). *Biocompatibility of CAD / CAM Milled Dental Restorative Materials : A Systematic Review from In Vitro Studies*. 1–30.
- Maru, V., Dixit, U., Patil, R. S. B., & Parekh, R. (2021). Cytotoxicity and bioactivity of mineral trioxide aggregate and bioactive endodontic type cements: A systematic review. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 14(1), 30–39. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1880>
- 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(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/309/1/012020>
- Pedrinha, V. (2024). Effects of natural antimicrobial compounds propolis and copaiba on periodontal ligament fibroblasts, molecular docking, and in vivo study in Galleria mellonella. *Biomed Pharmacother*.
- Putri, W. E., & Anindhita, M. A. (2022). Optimization of cardamom fruit ethanol extract gel with combination of HPMC and Sodium Alginate as the gelling agent using Simplex Lattice Design. *Scientific Journal of Pharmacy*, 107–120.
- Selin, E., Mandava, G., Vilcu, A. L., Oskarsson, A., & Lundqvist, J. (2022). An in vitro-based hazard assessment of liquid smoke food flavourings. *Archives of Toxicology*, 96(2), 601–611. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03190-1>
- Setiawan, L. N., Li, W., & Kartika, D. C. (2025). Studi in-vitro uji stabilitas dan efektivitas gel asap cair tempurung kelapa terhadap Candida albicans dan Enterococcus faecalis pada saluran akar gigi. *COMSERVA: Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*, 4(10), 251-266. ISSN 2798-5210 (e- ISSN); 2798-5652 (p-ISSN).
- Setiawan, L. N., Avrillia, R., & Pradipta, T. (2025). In- vitro study on the effectiveness of coconut shell liquid smoke gel on cleaning smear layer and debris in root canal treatment. *Journal Research of Social Science, Management and Economic*.
- Sobieszczanski, J., Mertowski, S., Sarna-Boś, K., Stachurski, P., Grywalska, E., & Chałas, R. (2023). Root Canal Infection and Its Impact on the Oral Cavity Microenvironment in the Context of Immune System Disorders in Selected Diseases: A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/jcm12124102>
- Surboyo, M. D. C., Mahdani, F. Y., Ayuningtas, N. F., Santosh, A. B. R., Ernawati, D. S., Mansur, D., Arundina, I., Nagoro, A. A. B., & Rahmadhany, I. P. (2021). The cytotoxicity, anti-inflammation, anti-nociceptive and oral ulcer healing properties of coconut shell liquid smoke. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 10(4), 459–467. <https://doi.org/10.34172/jhp.2021.53>

- Stindlova, M., Peroutka, V., Jencova, V., Havlickova, K., & Lencova, S. (2024). Application of MTT assay for probing metabolic activity in bacterial biofilm-forming cells on nanofibrous materials. *Journal of Microbiological Methods*, 224, 107010.
- Taufik, M. I., & Zebua, N. F. (2023). Literature Review: Efek Farmakologi Asap Cair. *Forte Journal*, 3(2), 107–114. <https://doi.org/10.51771/fj.v3i2.519>
- Wen, S., et al. (2024). Dental stem cell dynamics in periodontal ligament regeneration: from mechanism to application. *Stem Cell Research & Therapy*, 15(1), 124. <https://doi.org/10.1186/s13287-024-04003-9>
- Youssef, A.R., Elsherief, S., 2021. Evaluation of the cytotoxic effects of a new Harvard MTA compared to MTA Flow and ProRoot MTA on human gingival fibroblasts. *Saudi Dent. J.* 33, 679–686.
- Zhao, Z., Chen, L., Zhu, S., Yu, H., Chen, Y., Song, J., Liu, Y., & He, D. (2025). Periodontal ligament stem cells in tissue remodeling: from mechanical forces to inflammatory signals. *Stem Cell Research & Therapy*, 16, 653.