



JURNAL KEDOKTERAN GIGI TERPADU

VOLUME 6, NO 1, 2024

ISSN : 2716-0718

ISSN-E : 2685-6867

Website : <https://e-journal.trisakti.ac.id/index.php/jkgt>

Editorial Team JKGT

Editor in Chief

- *drg. Carolina Damayanti Marpaung, SpPros., Ph.D*
Departemen Prostodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Indonesia

Board of Editor

- *drg. Enrita Dian Rahmadini, Sp.KGA*
Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia
- *drg. Tri Putriany Agustin, Sp.KGA*
Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia
- *drg. Arianne Dwimega, Sp.KGA*
Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia
- *drg. Goalbertus, MM., MKM*
Departemen Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat dan Pencegahan, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia
- *drg. Christiana Rialine Titaley, MIPH., Ph.D*
Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran, Universitas Pattimura, Maluku, Indonesia
- *drg. Steffano Aditya Handoko, MPH., Sp.Pros*
Departemen Prostodonsia, Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi dan Profesi Dokter Gigi (PSSKGPDG), Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Bali, Indonesia
- *drg. Marthin Maha, Sp.Ort*
Departemen Ortodonsia, RSGM Gusti Hasan, Kalimantan Selatan, Indonesia



JURNAL KEDOKTERAN GIGI TERPADU

VOLUME 6, NO 1, 2024

ISSN : 2716-0718

ISSN-E : 2685-6867

Website : <https://e-journal.trisakti.ac.id/index.php/jkgt>

Articles

[Perubahan Warna Pada Bahan Restorasi Resin Komposit Nanofiller Terhadap Perendaman Saliva Buatan Dengan pH 5](#)

Wiena Widyastuti, Afifa Tri Septiani

1-5

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Efek Antibakteri dan Antibiofilm Minyak Atsiri Cendana India \(*Santalum album* L.\) Terhadap *Streptococcus sanguinis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* \(in vitro\)](#)

Chelsy Clarya Tumaang, Ciptadhi Tri Oka Binartha

6-10

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Pewarna Plak Gigi dari Pewarna Alami Buah Naga Merah, Sebuah Tinjauan Cakupan](#)

Alit Wesilintang, Amaliya Amaliya, Budhi Cahya Prasetyo

11-16

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Pemasangan Dua Merek Implan pada Satu Pasien](#)

Alice Santoso, Yessy Ariesanti

25-27

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Dental Autopsi dalam Bidang Kedokteran Gigi Forensik](#)

Rizki Tanjung

21-24

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Penggunaan Asam Hialuronat untuk Penatalaksanaan Black Triangle](#)

Cynthia Tandjaja, Iuki Astuti

17-20

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Ekstrak Daun Tapak Dara sebagai Potensi Bahan Antikanker terhadap Sel Kanker Mulut](#)

Nur Amalia Isnaeni, Ferry Sandra, Ria Aryani Hayuningtyas

31-33

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Pengetahuan dan sikap dokter gigi umum di kota semarang terhadap desain gtsl akrilik](#)

Andy Wirahadikusumah, Nabila Cetta Prayitno Putri

34-38

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Penatalaksanaan Pemasangan Dental Implant pada kasus Kehilangan Gigi Posterior Tunggal](#)

Aristya Kartikasari Halim, Wiwiek Poedjiastoeti

39-41

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Gambaran Kecemasan Pada Pasien Selama Perawatan Gigi Tiruan Cekat\(Kajian pada pasien di RSGM-P FKG Universitas Trisakti\)](#)

Zevanya Vanessa Sirait, Aditya Pratama Sarwono

42-44

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Potensi Antibakteri Ekstrak \(Graptophyllum Pictum \(L.\) Griff\) Pada Porphyromonas gingivalis](#)

Albert, Syifa Ameliya Az-Zahra

45-49

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Infeksi odontogenik: phlegmon dan selulitis](#)

Anggraeny Putri Sekar Palupi

50-52

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Metode uji sitotoksitas biomaterial dengan bentuk scaffold padatan dan berpori spons](#)

Ruth Belatriks Kalangit, Octarina

53-56

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Potensi ekstrak daun gamal sebagai bahan antikanker terhadap sel kanker rongga mulut](#)

Savrinda Annistri, Ferry Sandra, Boedi Oetomo Roeslan

57-60

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Potensi stenochlaena palustris \(burm.f.\) bedd. Sebagai Antikanker dalam perawatan kanker mulut](#)

Elizabeth Yuliani Taramalinda, Ferry Sandra, Boedi Oetomo Roeslan

61-64

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan ABTS Terhadap Ekstrak Etanol Daun Amaranthus hybridus L.](#)

Monica Dewi Ranggaini, Johni Halim, Michelle Aurelia Tjoe

65-69

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Potensi Alisin bagi Kedokteran Gigi](#)

Gloria Fonda, Priska Natassya, Didi Nugrogo

70-71

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Perawatan ulang saluran akar gigi molar kanan mandibula](#)

Rosita Stefani, Steward

72-75

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Gambaran Kualitas Hidup pada Lansia Pengguna Gigi Tiruan Lepas](#)

Nindya Lutfia Rachma, I Gusti Ayu Ratih Utari Mayun

76-79

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Hubungan penyakit periodontal dengan covid-19](#)

Trijani Suwandi, Deandra Carissa Nurhasinah Wiriawan

80-83

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Penatalaksanaan jaringan gingiva dalam penggunaan retraction cord](#)

Aditya Pratama Sarwono, Rahmah Fitriyasari

84-86

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Gambaran inklinasi insisivus sentral maksila pada pasien ortodonti usia 18-25 tahun berdasarkan analisis sudut U1-SN](#)

Stella Maria Fidela Maringka, Magdalena Juliani Hardja Buntara

87-90

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Peran Allium sativum dalam menanggulangi patogen rongga mulut](#)

Bella Utomo, Ria Aryani Hayuningtyas, Didi Nugrogo

91-92

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Efek antibakteri dan antibiofilm minyak atsiri cendana india \(santalum album l.\) Terhadap fusobacterium nucleatum dan treponema denticola \(in vitro\)](#)

Clarissa Valeri, Ciptadhi Tri Oka Binartha

93-96

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Gambaran kecemasan dental anak berdasarkan usia pada siswa sekolah dasar negeri 2 karanganyar kabupaten indramayu](#)

Rahmah Fitriyasari, Arianne Dwimega

97-100

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Penerapan green dentistry dalam praktik kedokteran gigi](#)

Lia Hapsari Andayani, Abdul Gani Soulisa

101-104

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Uji validitas dan reliabilitas kuesioner Tingkat pemahaman obstructive sleep apnea \(osa\) dokter gigi di jakarta](#)

Tasya Zakiah Karim, Siti Chandra Dwidjayanti, Eka Seftiana Indah Sari

105-107

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Penatalaksanaan kasus bimaxillary dental protrusion disertai gigi anterior berjejal berat](#)

Riko Nofrizal

108-111

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Gambaran sefalometri pasien usia 8-11 tahun menggunakan analisis jarabak](#)

Ratu Hobibah Muqodariah, Olivia Piona Sahelangi

112-114

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Perbandingan splinting kawat komposit dengan splinting fiber reinforced composite untuk stabilisasi mobilitas gigi](#)

Racheliza Purnomo, Albert

115-117

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Penggunaan abutment bersudut sebagai alternatif pada implan gigi premolar](#)

Reynaldo Indra Tjiptadi, Yessy Ariesanti

118-121

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Potensi buah zanthoxylum acanthopodium dc. dalam menghambat kanker rongga mulut](#)

Dinda Syafiqa Amelia, Ferry Sandra, Muhammad Ihsan Rizal

122-125

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Potensi \$\beta\$ -tricalcium phosphate sebagai kandidat material pulp capping](#)

Rafhaela Johanna Halim, Eddy, Dina Ratnasari, Rosalina Tjandrawinata, Eko Fibryanto, Florencia Livia

126-129

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Pengaruh sistem poles eve diacara terhadap kekasaran permukaan Zirconia generasi 3y-tzp setelah tahap occlusal adjustment](#)

Tri Ananda Fadillah, James Handojo

130-132

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Oral manifestations in crohn's disease patients \(scoping review\)](#)

Alya Chamilia Chantika, Andrian Nova Fitri

133-137

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Pengaruh perendaman dengan red wine terhadap perubahan warna restorasi resin komposit one shade](#)

Fiona Priscilia Dinata Tobing, Bernard Ongki Iskandar, Rosita Stefani

138-142

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Uji Three Point Bending Kawat Nikel Titanium Dimensi 0,010 x 0,030 Inci yang digunakan sebagai retainer](#)

Salsabila Diva Gama Putri, Fajar Hamonangan Nasution, Harris Gadih Pratomo

143-146

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Karies gigi terhadap balita stunting dan gizi buruk](#)

Michelle Alicia Wongkar, Rr. Asyurati Asia, Tiarma Talenta Theresia

147-149

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

[Penatalaksanaan celah bibir](#)

Anggraeny Putri Sekar Palupi

150-152

[Download PDF](#)

Abstract views: 0 , PDF downloads: 0

Ahead of Print

[Peran igf-1 dan let-7 dalam morfogenesis gigi ditinjau dari sel punca mesenkimal pulpa gigi](#)

Jessica Endriyana, Ria Aryani Hayuningtyas

[Download PDF](#)

Abstract views: 127 , PDF downloads: 108

[Pengaruh stunting terhadap perkembangan kognitif pada balita hingga remaja](#)

Priska Natassya, Sheila Soesanto

[Download PDF](#)

Abstract views: 147 , PDF downloads: 119

[Penggunaan Gigi Tiruan pada Lansia dengan Obstructive Sleep Apnea](#)

Siti Chandra Dwidjayanti, Isnaeni Kurniawati, Carolina Marpaung

[Download PDF](#)

Abstract views: 104 , PDF downloads: 90

[Insights into periodontitis: pathogenesis, host response, and antibiotic strategies](#)

Ria Aryani Hayuningtyas, Jessica Endriyana, Priska Natassya

[Download PDF](#)

Abstract views: 81 , PDF downloads: 71

Metode uji sitotoksitas biomaterial dengan bentuk scaffold padatan dan berpori spons

Ruth Belatriks Kalangit¹, Octarina^{2*}

¹Undergraduate Student Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Jakarta 11440 – Indonesia

²Department of Dental Material, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Jakarta 11440 – Indonesia

*Email : octarina@trisakti.ac.id

ABSTRACT

Three-dimensional scaffolds play a crucial role in supporting cell growth and tissue regeneration, especially in bone regenerative applications. Their utilization in dentistry demands effective cytotoxicity assessment, particularly for sponge-shaped scaffolds with a unique porous structure fostering a complex environment for cell growth. Therefore, the imperative lies in selecting cytotoxicity testing methods suitable for these characteristics. Relevant methods for such scaffolds include MTS, Alamar Blue, ATP, CCK-8, and MTT assays. MTS assay efficiently measures cell viability in a three-dimensional setting, while Alamar Blue and CCK-8 assays, with their water-soluble nature and high reproducibility, prove advantageous. ATP assay provides direct insights into cellular metabolic activity, and MTT assay assesses cell viability based on enzymatic capabilities. Due to their water-soluble characteristics, minimizing additional extraction steps, and ensuring high reproducibility, Alamar Blue and CCK-8 emerge as the most fitting options for cytotoxicity assessment in dentistry's sponge-shaped scaffolds.

Keywords: Biomaterial Scaffold, Porous Sponge Biomaterial, Cytotoxicity Testing Methods.

PENDAHULUAN

Scaffolds merupakan struktur biomaterial 3 dimensi yang digunakan sebagai media penyangga yang mendukung pertumbuhan sel, regenerasi jaringan atau organ, bahkan perbaikan jaringan tulang destruktif.¹ Biomaterial scaffolds memiliki peran krusial dalam membentuk lingkungan yang mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel dalam berbagai aplikasinya, termasuk regenerasi tulang, kartilago, dan pembuatan organ buatan.² Scaffold yang digunakan dalam dunia medis umumnya memiliki karakteristik seperti mampu memfasilitasi adhesi sel, membantu pertumbuhan sel serta memungkinkan terjadinya pembelahan sel, biokompatibel, biodegradable, porositas harus cukup tinggi untuk tempat adhesi sel dan regenerasi matriks ekstraseluler serta struktur yang berpori memungkinkan terjadinya pembentukan jaringan yang homogen, memiliki sifat mekanik yang sesuai dengan jaringan gingiva yang diperbaiki, template 3D membantu pembentukan jaringan baru, serta permukaan sesuai untuk penempelan sel, proliferasi dan diferensiasi.³

Scaffold dalam bidang kedokteran gigi saat ini banyak digunakan dalam rongga mulut pasien untuk penyembuhan jaringan lunak maupun keras. Scaffold ini diaplikasikan dalam rongga mulut dan ditinggalkan agar terserap dengan sendirinya. Sebelum diterapkan secara luas dalam konteks kedokteran gigi, setiap biomaterial medis diwajibkan menjalani sejumlah tahap pengujian, salah satunya melibatkan pengujian sitotoksitas in vitro. Tujuannya adalah untuk menjamin aspek keamanan dan kompatibilitas biologisnya.⁴ Meskipun terdapat beragam jenis uji sitotoksitas yang dapat digunakan, namun tidak semuanya cocok untuk semua jenis bentuk biomaterial. Pada biomaterial berbentuk spons, perlu diperhatikan bagaimana adaptasi jenis uji sitotoksitas tersebut terhadap karakteristik struktur berporus.⁵ Oleh karena itu, artikel ini bertujuan untuk membahas jenis uji sitotoksitas yang efektif dan sering digunakan untuk biomaterial scaffold berbentuk spons, yang bertujuan

memberikan panduan kepada peneliti dalam melakukan penelitian yang akurat dan terfokus.

Beberapa metode uji sitotoksitas yang sesuai untuk scaffolds biomaterial berbentuk spons antara lain adalah MTS Assay, Alamar blue Assay, ATP Assay, CCK-8 Assay, dan MTT Assay. MTS Assay adalah metode uji keberlangsungan sel, mengukur viabilitas dengan mengubah senyawa MTS menjadi bentuk berwarna yang diukur spektrofotometri.⁶ Alamar Blue Assay adalah metode uji keberlangsungan sel yang menggunakan senyawa resazurin, diubah oleh sel hidup menjadi resorufin, memberikan perubahan warna yang diukur spektrofotometri.⁷ ATP Assay merupakan metode mengukur kadar ATP, memberikan informasi langsung tentang aktivitas metabolik dan keberlangsungan sel.⁸ CCK-8 Assay merupakan Uji keberlangsungan sel dengan senyawa WST-8, memberikan hasil sensitif tentang viabilitas sel.⁹ MTT Assay merupakan metode uji viabilitas sel, menggunakan senyawa MTT yang diubah menjadi kristal berwarna oleh sel hidup, mengukur aktivitas metabolik dan keberlangsungan sel.¹⁰

METODE UJI SITOTOKSISITAS

Pengujian sitotoksitas adalah metode evaluasi yang digunakan untuk mengukur sejauh mana biomaterial dapat memengaruhi reaksi sel hidup ketika digunakan sebagai implant atau dalam konteks kultur sel. Pengujian ini mencakup pengamatan terhadap keberlangsungan hidup sel serta kemampuan sel untuk berkembang dalam kehadiran bahan biomaterial tersebut.

Uji sitotoksitas yang efektif digunakan untuk menguji biomaterial berbentuk spons scaffold antara lain

a. MTS Assay

Uji MTS (Metode Kolorimetri 5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4,5-dimetil-tiazolil)-3-(4-sulfophenil) inner salt) adalah metode kolorimetri yang mengukur viabilitas sel dengan mengubah garam tetrazolium menjadi formazan berwarna melalui aktivitas mitokondria sel hidup.¹¹ Kuantitas formazan yang

dihasilkan berkaitan dengan jumlah sel hidup dalam kultur dan dapat diukur pada panjang gelombang 492 nm menggunakan spektrofotometer.¹²

Sejumlah penelitian terdahulu telah mengonfirmasi bahwa uji MTS memiliki karakteristik yang sesuai sebagai sistem pengukuran yang efisien, akurat, dan mampu memberikan indikasi toksisitas secara cepat.¹³ Dalam konteks pengujian biomaterial berbentuk spons, uji MTS dapat menjadi pilihan yang sesuai untuk mengukur viabilitas sel dalam sistem kultur tiga dimensi (3D), seperti yang ditemukan pada bahan berbentuk spons. Hal ini karena uji MTS memiliki keunggulan dalam pengukuran sel hidup dalam lingkungan kultur sel yang lebih kompleks dibandingkan dengan kultur sel dua dimensi (2D).¹⁴

Uji MTS memiliki potensi kekurangan yang perlu dipertimbangkan, termasuk pengaruh waktu inkubasi, jenis sel, jumlah sel, dan proporsi reagen MTS terhadap sel. Penelitian terdahulu menunjukkan hubungan linear antara waktu inkubasi dan absorbansi selama waktu inkubasi singkat hingga 5 jam, yang menyarankan bahwa uji ini mungkin kurang sesuai untuk pengukuran yang memerlukan hasil segera.¹⁵ Variabilitas respons sel berdasarkan jenis dan jumlah sel juga memengaruhi hasil, sehingga perhatian khusus terhadap kondisi eksperimental sangat penting. Pengaturan yang tepat terhadap proporsi reagen MTS juga menjadi faktor kunci untuk memastikan hasil yang konsisten. Oleh karena itu, dalam pemilihan metode pengukuran sitotoksitas, aspek karakteristik bahan dan jenis sel serta kebutuhan eksperimental harus diperhitungkan.¹⁶

b. Alamar Blue Assay

Metode Alamar Blue, yang juga dikenal sebagai uji reduksi resazurin, merupakan teknik yang mengevaluasi viabilitas dan proliferasi sel dalam berbagai jenis sel manusia dan hewan, termasuk bakteri dan fungi.¹⁷ Teknik ini memanfaatkan perubahan warna dari pewarna biru resazurin yang awalnya nonfluorescent menjadi warna merah muda yang sangat berfluoresensi, resorufin. Transformasi ini dipicu oleh berbagai enzim seluler, seperti diaphorases dan enzim mitokondria. Perubahan ini menjadi indikator yang berkorelasi dengan jumlah sel hidup.¹⁸ Resazurin berperan sebagai penerima elektron perantara dalam rantai transportasi elektron seluler, menggantikan peran oksigen molekuler. Pewarna ini aman digunakan dan mudah meresap ke dalam sel tanpa mengganggu proses seluler dari sel tersebut. Pada saat resazurin memasuki sel, ia mengalami reduksi menjadi resorufin, yang mengakibatkan perubahan warna yang mencolok dan dapat diukur.¹⁹ Kuantitas resorufin yang dihasilkan menjadi tolok ukur untuk menentukan jumlah sel yang hidup. Pengukuran ini dapat dilakukan dengan menggunakan pembaca mikro yang dilengkapi dengan filter eksitasi 560 nm dan emisi 590 nm.²⁰ Keunggulan dari Alamar Blue adalah kemampuannya yang sangat sensitif, serta sifat non radioaktifnya, larut dalam air (yang menghilangkan kebutuhan akan langkah-langkah pencucian tambahan), dan kemampuannya untuk dideteksi melalui spektroskopi absorbansi atau fluoresensi.²¹

Berkaitan dengan konteks pengujian biomaterial berbentuk spons, Alamar Blue merupakan solusi yang efisien dikarenakan memiliki karakteristik watersoluble. Hal ini berarti pengujian biomaterial tersebut tidak memerlukan langkah ekstraksi atau pemrosesan tambahan, yang biasanya diperlukan dalam metode lain. Keunggulan ini sangat bermanfaat dalam mengatasi

kompleksitas struktur biomaterial spons yang seringkali dihadapi dalam penelitian dengan uji lain.²² Sama seperti jenis pengujian yang lainnya, Alamar Blue assay ini tetap memiliki kekurangan, bahwa metodenya bergantung pada jalur metabolisme sel yang rentan dipengaruhi oleh kemampuan sel individu dalam melakukan reduksi dan oleh agen-agenya yang mempengaruhi aktivitas mitokondria atau memiliki efek langsung dalam mereduksi resazurin. Berkaitan dengan konteks ini, perubahan dalam aktivitas seluler atau pengaruh substansi tertentu pada kemampuan sel dalam mereduksi resazurin dapat memengaruhi hasil uji sitotoksitas.²³

c. ATP Assay

ATP adalah metode yang digunakan untuk menentukan konsentrasi adenosine tri-phosphate (ATP) dalam sel atau sampel biologis.²⁴ Prinsip dasar dari metode ini melibatkan reaksi luciferin menjadi oksiluciferin yang dikatalisis oleh enzim luciferase, dengan kehadiran ion Mg^{2+} dan ATP, menghasilkan sinyal luminensens.²⁵ Tingkat konsentrasi ATP dalam sampel dapat dihitung berdasarkan intensitas sinyal luminensens yang terdeteksi. Metode ATP assay sering digunakan sebagai alat untuk mengevaluasi keberlangsungan hidup sel.²⁶ Ketika sel mengalami kerusakan yang parah dan kehilangan integritas membran, mereka cenderung memiliki kadar ATP yang lebih rendah, yang tercermin dalam hasil luminensens yang lebih rendah dalam metode ini.²⁷

Uji ATP memiliki beberapa keunggulan yang signifikan. Pertama, metode ini sangat cepat, dengan sinyal luminensens yang stabil dalam waktu singkat, yaitu hanya 10 menit setelah penambahan reagen. Selain itu, Uji ATP sangat sensitif, mampu mendeteksi perubahan kecil dalam viabilitas sel.²⁸ Sifat cepat dan sangat sensitif ini menjadikan ATP sebagai pilihan yang tepat untuk mengevaluasi viabilitas sel dalam struktur 3D seperti spons. Keunggulan lainnya adalah minimasi risiko kesalahan dalam pengujian, sehingga hasil pengukuran menjadi lebih dapat diandalkan. Metode ini juga tidak memerlukan langkah inkubasi tambahan, menghemat waktu dan langkah dalam proses pengujian.²⁹ Kekurangan utama dalam uji ATP biasanya berasal dari masalah reproduktibilitas dalam mengambil sampel ulang, bukan disebabkan oleh masalah kimia atau metode uji itu sendiri. Artinya, sensitivitas uji ATP sering terbatas oleh ketidakpastian dalam pengambilan sampel ulang, yang dapat menghasilkan hasil yang kurang konsisten.³⁰

d. CCK-8 (WST-8)

Uji WST-8 merupakan metode kolorimetri yang digunakan untuk menghitung jumlah sel hidup dalam viabilitas sel dan dapat diterapkan dalam penelitian proliferasi sel maupun uji sitotoksitas. WST-8 (2-(2-metoksi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfophenil)-2H tetrazolium, garam monosodium) yang sangat stabil dan larut dalam air, digunakan dalam Cell Counting Kit-8 (CCK-8). CCK-8 memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan WST-1, terutama pada pH netral.³¹ Prinsip dasar dari WST-8 dalam uji sitotoksitas melibatkan metabolisme garam ini oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terletak di mitokondria sel, menghasilkan kristal formazan berwarna ungu. Intensitas warna ungu kemudian diukur menggunakan pembaca mikroskop pada panjang gelombang 450 nm. Intensitas warna ini berbanding lurus dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme, yang mencerminkan tingkat viabilitas sel.³²

Keunggulan WST-8 dalam penggunaannya di uji CCK-8 adalah ketidakmampuannya menembus sel, sehingga memiliki tingkat sitotoksitas yang rendah. Dengan demikian, eksperimen lebih lanjut dapat dilakukan dengan menggunakan sel yang sama setelah uji selesai.³³ Selain itu, WST-8 menghasilkan formazan yang larut dalam air setelah mengalami reduksi seluler, yang mengakibatkan prosedur uji yang lebih sederhana dan tidak memerlukan langkah tambahan untuk melarutkan formazan.³⁴ Pada konteks pengujian pada biomaterial berbentuk spons, seperti spons atau struktur berpori, WST-8 cocok digunakan karena karakteristiknya yang sejalan dengan struktur berpori bahan sponge. Struktur berpori ini memungkinkan sel-sel tumbuh di dalam pori-pori dan ruang-ruang bahan tersebut. Dengan rendahnya permeabilitas sel oleh WST-8, struktur berpori bahan sponge tetap dapat berfungsi tanpa gangguan. Hal ini berarti bahwa uji dengan WST-8 pada sel yang tumbuh dalam struktur berpori tidak akan mengganggu integritas sel dan tidak akan menghasilkan tingkat sitotoksitas yang tinggi.³⁵ CCK-8 memiliki kekurangan juga berkaitan dengan perubahan dalam pengurangan substrat uji dipengaruhi oleh perubahan dalam aktivitas metabolik intraseluler yang tidak berdampak langsung pada viabilitas sel secara keseluruhan. Hal ini berarti bahwa perubahan dalam aktivitas metabolisme sel dalam inti dapat memengaruhi hasil uji, namun hasil ini tidak selalu mencerminkan secara tepat kondisi keseluruhan viabilitas sel. Hal ini dapat mengakibatkan potensi interpretasi yang lebih rumit terhadap hasil uji dan memerlukan pemahaman yang lebih mendalam dalam menganalisis data sitotoksitas.³⁶

e. MTT Assay

Uji MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) adalah salah satu metode kolorimetri yang umum digunakan dalam evaluasi sitotoksitas sel. Metode ini difokuskan pada penentuan viabilitas sel dengan mengukur aktivitas enzim mitokondria, seperti suksinat dehidrogenase, yang mencerminkan fungsi mitokondria sel.³⁷ Dalam pengujian ini, senyawa MTT mengalami reduksi menjadi bentuk formazan berwarna ungu, yang disebabkan oleh kemampuan enzim oksidoreduktase seluler yang bergantung pada nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) untuk mengurangi pewarna tetrazolium MTT menjadi bentuk formazan yang tidak larut. Absorbansi larutan berwarna ungu ini dapat diukur pada panjang gelombang tertentu (biasanya antara 500 hingga 600 nm) menggunakan spektrofotometer.³⁸

Metode uji ini memiliki keunggulan dalam hal kemudahan penggunaan, keamanan, reproduktibilitas yang tinggi, serta aplikasi yang luas dalam menilai viabilitas sel dan uji sitotoksitas.³⁹ Berkaitan dengan biomaterial berbentuk sponge, metode ini merupakan salah satu jenis uji sitotoksitas yang sering digunakan untuk pengujian sponge. Namun, ada beberapa kekurangan yang perlu diperhatikan. Salah satunya adalah ketidaklarutan kristal formazan MTT dalam air, sehingga memerlukan penggunaan pelarut organik, yang dapat meningkatkan kompleksitas prosedur.⁴⁰ Selain itu, formazan MTT memiliki sifat sitotoksik yang dapat berdampak pada kesehatan sel, menyebabkan potensi kesalahan dalam uji sitotoksitas. Kesulitan dalam menghilangkan media kultur sel juga merupakan tantangan, karena formazan MTT membentuk kristal dalam sel yang sulit dihilangkan, dapat menyebabkan kesalahan dalam pengukuran absorbansi.⁴¹

KESIMPULAN

Biomaterial scaffolds, termasuk yang berbentuk spons, memegang peran penting dalam rekayasa jaringan dan regenerasi tulang. Uji sitotoksitas merupakan langkah kritis dalam memastikan keamanan dan kompatibilitas biologisnya sebelum diterapkan dalam konteks kedokteran gigi atau aplikasi medis lainnya. Pemilihan metode uji sitotoksitas yang sesuai sangat tergantung pada karakteristik struktural biomaterial. Berkaitan dengan konteks biomaterial berbentuk spons atau berstruktur pori, metode uji MTS, Alamar Blue, ATP, CCK-8, dan MTT memiliki relevansi yang signifikan. Masing-masing metode memiliki keunggulan dan kelemahan dalam aplikasinya untuk menguji biomaterial dalam bentuk ini. Alamar Blue dan CCK-8 muncul sebagai opsi yang paling sesuai untuk biomaterial scaffolds berbentuk spons. Alamar Blue, dengan sifat watersoluble-nya, tidak memerlukan langkah ekstraksi tambahan, sehingga dapat efisien digunakan pada biomaterial berpori, mengatasi kompleksitas struktur yang dimilikinya. Di sisi lain, CCK-8, menggunakan WST-8, cocok untuk biomaterial berpori dan memberikan keuntungan minimnya risiko kesalahan dalam pengujian, sehingga hasil pengukuran menjadi lebih dapat diandalkan. Sifat non-permeabilitas sel oleh WST-8 juga memungkinkan pengujian tanpa mengganggu integritas sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Chinnasami H, Dey MK, Devireddy R. Three-dimensional scaffolds for bone tissue engineering. *Bioengineering* 2023;10(7):759. doi:10.3390/bioengineering10070759
- Zhou J, Xiong S, Liu M, Yang H, Wei P, Yi F, et al. Study on the influence of scaffold morphology and structure on osteogenic performance. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023;11.
- Hoque E, Nuge T, Tshai KY, Nordin NN, Prasad V. Gelatin based scaffolds for tissue engineering – A review. *Polymers Research Journal*. 2015;9:15–32.
- Hirsch C, Schildknecht S. In vitro research reproducibility: keeping up high standards. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;10.
- Zubair MS, Lallo S, Yunovilsa Putra M, Hadi TA, Jantan I. Antibacterial and cytotoxic activities of sponges collected off the coast of Togean Islands, Indonesia. *Pharmacognosy Journal*. 2018;10(5):988–992.
- Wang Y, Nguyen DT, Yang G, Anesi J, Kelly J, Chai Z, et al. A modified MTS proliferation assay for suspended cells to avoid the interference by hydralazine and β -mercaptoethanol. *ASSAY and Drug Development Technologies*. 2021;19(3):184–190.
- Longhin EM, El Yamani N, Rundén-Pran E, Dusinska M. The Alamar blue assay in the context of safety testing of nanomaterials. *Frontiers in Toxicology*. 2022;4.
- Hammerstein AF, Wylie PG. Accurate cytotoxicity and proliferation determination: Advantages of a high-throughput phenotypic approach over ATP luminescence assays. *ASSAY and Drug Development Technologies*. 2016;14(7):407–415.
- Jiao G, He X, Li X, Qiu J, Xu H, Zhang N, et al. Limitations of MTT and CCK-8 assay for evaluation of graphene cytotoxicity. *RSC Advances*. 2015;5(66):53240–53244.
- Benov L. Effect of growth media on the MTT colorimetric assay in bacteria. *PLOS ONE*. 2019;14(8).
- Kuete V, Karaosmanoglu O, Sivas H. Anticancer activities of African medicinal spices and vegetables. In: Elsevier eBooks [Internet]. 2017. 271–297.
- Erkekoğlu P, Baydar T, Güncel İ. In vitro sitotoksitas testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2021;41(1):45–63.
- Arab-Bafrani Z, Shahbazi-Gahrouei D, Abbasian M, Fesharaki M. Multiple MTS assay as the alternative method

- to determine survival fraction of the irradiated HT-29 colon cancer cells. *Journal of Medical Signals Sensing* 2016;6:112-116.
14. Aslantürk ÖS. In vitro cytotoxicity and cell viability assays: Principles, advantages, and disadvantages. In: *InTech eBooks* [Internet]. 2018.
 15. Buttke TM, McCubrey JA, Owen TC. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay to measure viability and proliferation of lymphokine-dependent cell lines. *Journal of Immunological Methods*. 1993;157(1-2):233-240.
 16. Wang P, Henning SM, Heber D. Limitations of MTT and MTS-Based assays for measurement of antiproliferative activity of green tea polyphenols. *PLOS ONE*. 2010;5(4):10202.
 17. Longhin E, Yamani NE, Rundén-Pran E, Dušínská M. The alamar blue assay in the context of safety testing of nanomaterials. *Frontiers in Toxicology*. 2022; 28(4).
 18. Kamiloglu S, Sarı G, Özdal T, Çapanoğlu E. Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers* [Internet]. 2020;1(3):332-349.
 19. O'Neill T, Li H, Colquhoun CD, Johnson JA, Webster D, Gray CA. Optimisation of the Microplate Resazurin Assay for Screening and Bioassay-guided Fractionation of Phytochemical Extracts against *Mycobacterium tuberculosis*. *Phytochemical Analysis*. 2014;25(5):461-7.
 20. Zachari M, Chondrou PS, Pouliliou S, Mitrakas A, Abatzoglou I, Zois CE, et al. Evaluation of the Alamar Blue assay for adherent cell irradiation experiments. *Dose-response*. 2013;12(2): 246-58.
 21. Pettit RK, Weber CA, Pettit GR. Application of a high throughput Alamar blue biofilm susceptibility assay to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2009;8(1):28.
 22. Zuppolini S, Borriello A, Pellegrino M, Venditto V, Ambrosio L, Nicolais L. Potential contact and intraocular lenses based on hydrophilic/hydrophobic sulfonated syndiotactic polystyrene membranes. *Journal of King Saud University - Science*. 2017 Oct 1;29(4):487-93.
 23. Erikstein BS, Hagland HR, Nikolaisen J, Kulawiec M, Singh KK, Gjertsen BT, et al. Cellular stress induced by resazurin leads to autophagy and cell death via production of reactive oxygen species and mitochondrial impairment. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2010 Jun 21;111(3):574-84.
 24. Lomakina GYu, Modestova YuA, Ugarova NN. Bioluminescence assay for cell viability. *Biochemistry (Moscow)*. 2015 Jun 1;80(6):701-13.
 25. Ihssen J, Jovanović N, Širec T, Spitz U. Real-time monitoring of extracellular ATP in bacterial cultures using thermostable luciferase. *PLOS ONE*. 2021 Jan 22;16(1):e0244200.
 26. Mempin R, Tran H, Chen C, Gong H, Ho KK, Lu S. Release of extracellular ATP by bacteria during growth. *BMC Microbiology*. 2013 Dec 1;13:301.
 27. Liao S, Gong G, Wang X, Tian L. Membrane damage mechanism of protocatechualdehyde against *Micrococcus luteus* and its effect on pork quality characteristics. *Scientific Reports*. 2022 Nov 7;12(1):18856.
 28. Karakaş D, Arı F, Ulukaya E. The MTT viability assay yields strikingly false-positive viabilities although the cells are killed by some plant extracts. *Turkish Journal of Biology*. 2017 Jan 1;41:919-25.
 29. Arroyo MG, Ferreira AM, Frota OP, Rigotti MA, De Andrade D, Brizzotti NS, et al. Effectiveness of ATP bioluminescence assay for presumptive identification of microorganisms in hospital water sources. *BMC Infectious Diseases*. 2017 Jun 30;17(1):458.
 30. Mazumdar P, Chowdhury D. *Manual of Laboratory Testing Methods for Dental Restorative Materials*. John Wiley & Sons; 2021.
 31. Chamchoy K, Pakotiprapha D, Pumirat P, Leartsakulpanich U, Boonyuen U. Application of WST-8 based colorimetric NAD(P)H detection for quantitative dehydrogenase assays. *BMC Biochemistry*. 2019 Apr 8;20(1):4.
 32. Dona R, Frimayanti N, Ikhtianudin I, Iskandar B, Maulana F, Silalahi NT. Studi In Silico, Sintesis, dan Uji Sitotoksik Senyawa P-Metoksi Kalkon terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *JSEK (Jurnal Sains Farmasi Klinis)* [Internet]. 2019 Dec 27;6(3):243.
 33. Stoddart MJ. WST-8 Analysis of cell viability during osteogenesis of human mesenchymal stem cells. In: *Methods mol biol*. 2011;740:21-5.
 34. Lin S, Yang L, Gu C, Li B, Chen D, Li L, et al. Pathogenic features and characteristics of food borne pathogens biofilm: Biomass, viability and matrix. *Microbial Pathogenesis*. 2017 Oct 1;111:285-91.
 35. Boffito M, Servello L, Arango-Ospina M, Miglietta S, Tortorici M, Sartori S, et al. Custom-Made Poly(urethane) Coatings Improve the Mechanical Properties of Bioactive Glass Scaffolds Designed for Bone Tissue Engineering Polymers. 2021;14(1):151.
 36. Damiani E, Solorio JA, Doyle AP, Wallace HM. How reliable are in vitro IC50 values? Values vary with cytotoxicity assays in human glioblastoma cells. *Toxicology Letters*. 2019 Mar 1;302:28-34.
 37. Buranaamnuay K. The MTT assay application to measure the viability of spermatozoa: a variety of the assay protocols. *Open Veterinary Journal*. 2021 Jan 1;11(2):251.
 38. Nair A, Nayak M, Prasada LK, Shetty V, Kumar CNV, Nair RR. Comparative Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of Two Bioceramic Sealers on Fibroblast Cell Line: An in vitro Study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 2018 Jan 1;19(6):656-61.
 39. Aslantürk ÖS, Çelik TA, Karabey B, Karabey F. Active Phytochemical Detecting, Antioxidant, Cytotoxic, Apoptotic Activities of Ethyl Acetate and Methanol Extracts of *Galium aparine* L. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 2017 Jan 10;15(6):1-16.
 40. Van Tonder A, Joubert AM, Cromarty AD. Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Research Notes*. 2015 Feb 20;8(1).
 41. Karakaş D, Arı F, Ulukaya E. The MTT viability assay yields strikingly false-positive viabilities although the cells are killed by some plant extracts. *Turkish Journal of Biology*. 2017 Jan 1;41:919-25.

Metode uji sitotoksisitas biomaterial dengan bentuk scaffold padatan dan berpori spons

by Octarina FKG

Submission date: 21-Jul-2025 12:11PM (UTC+0700)

Submission ID: 2700090503

File name: JKG_T_Ruth-Octarina.pdf (176.78K)

Word count: 3470

Character count: 21700

Metode uji sitotoksitas biomaterial dengan bentuk scaffold padatan dan berpori spons

Ruth Belatriks Kalangit¹, Octarina^{2*}

¹Undergraduate Student Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Jakarta 11440 – Indonesia

²Department of Dental Material, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Jakarta 11440 – Indonesia

*Email : octarina@trisakti.ac.id

ABSTRACT

Three-dimensional scaffolds play a crucial role in supporting cell growth and tissue regeneration, especially in bone regenerative applications. Their utilization in dentistry demands effective cytotoxicity assessment, particularly for sponge-shaped scaffolds with a unique porous structure fostering a complex environment for cell growth. Therefore, the imperative lies in selecting cytotoxicity testing methods suitable for these characteristics. Relevant methods for such scaffolds include MTS, Alamar Blue, ATP, CCK-8, and MTT assays. MTS assay efficiently measures cell viability in a three-dimensional setting, while Alamar Blue and CCK-8 assays, with their water-soluble nature and high reproducibility, prove advantageous. ATP assay provides direct insights into cellular metabolic activity, and MTT assay assesses cell viability based on enzymatic capabilities. Due to their water-soluble characteristics, minimizing additional extraction steps, and ensuring high reproducibility, Alamar Blue and CCK-8 emerge as the most fitting options for cytotoxicity assessment in dentistry's sponge-shaped scaffolds.

Keywords: Biomaterial Scaffold, Porous Sponge Biomaterial, Cytotoxicity Testing Methods.

PENDAHULUAN

Scaffolds merupakan struktur biomaterial 3 dimensi yang digunakan sebagai media penyangga yang mendukung pertumbuhan sel, regenerasi jaringan atau organ, bahkan perbaikan jaringan tulang destruktif.¹ Biomaterial scaffolds memiliki peran krusial dalam membentuk lingkungan yang mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel dalam berbagai aplikasinya, termasuk regenerasi tulang, kartilago, dan pembuatan organ buatan.² Scaffold yang digunakan dalam dunia medis umumnya memiliki karakteristik seperti mampu memfasilitasi adhesi sel, membantu pertumbuhan sel serta memungkinkan terjadinya pembelahan sel, biokompatibel, biodegradable, porositas harus cukup tinggi untuk tempat adhesi sel dan regenerasi matriks ekstraseluler serta struktur yang berpori memungkinkan terjadinya pembentukan jaringan yang homogen, memiliki sifat mekanik yang sesuai dengan jaringan gingiva yang diperbaiki, template 3D membantu pembentukan jaringan baru, serta permukaan sesuai untuk penempelan sel, proliferasi dan diferensiasi.³

Scaffold dalam bidang kedokteran gigi saat ini banyak digunakan dalam rongga mulut pasien untuk penyembuhan jaringan lunak maupun keras. Scaffold ini diaplikasikan dalam rongga mulut dan ditinggalkan agar terserap dengan sendirinya. Sebelum diterapkan secara luas dalam konteks kedokteran gigi, setiap biomaterial medis diwajibkan menjalani sejumlah tahap pengujian, salah satunya melibatkan pengujian sitotoksitas in vitro. Tujuannya adalah untuk menjamin aspek keamanan dan kompatibilitas biologisnya.⁴ Meskipun terdapat beragam jenis uji sitotoksitas yang dapat digunakan, namun tidak semuanya cocok untuk semua jenis bentuk biomaterial. Pada biomaterial berbentuk spons, perlu diperhatikan bagaimana adaptasi jenis uji sitotoksitas tersebut terhadap karakteristik struktur berpori.⁵ Oleh karena itu, artikel ini bertujuan untuk membahas jenis uji sitotoksitas yang efektif dan sering digunakan untuk biomaterial scaffold berbentuk spons, yang bertujuan

memberikan panduan kepada peneliti dalam melakukan penelitian yang akurat dan terfokus.

Beberapa metode uji sitotoksitas yang sesuai untuk scaffolds biomaterial berbentuk spons antara lain adalah MTS Assay, Alamar blue Assay, ATP Assay, CCK-8 Assay, dan MTT Assay. MTS Assay adalah metode uji keberlangsungan sel, mengukur viabilitas dengan mengubah senyawa MTS menjadi bentuk berwarna yang diukur spektrofotometri.⁶ Alamar Blue Assay adalah metode uji keberlangsungan sel yang menggunakan senyawa resazurin, diubah oleh sel hidup menjadi resorufin, memberikan perubahan warna yang diukur spektrofotometri.⁷ ATP Assay merupakan metode mengukur kadar ATP, memberikan informasi langsung tentang aktivitas metabolik dan keberlangsungan sel.⁸ CCK-8 Assay merupakan Uji keberlangsungan sel dengan senyawa WST-8, memberikan hasil sensitif tentang viabilitas sel.⁹ MTT Assay merupakan metode uji viabilitas sel, menggunakan senyawa MTT yang diubah menjadi kristal berwarna oleh sel hidup, mengukur aktivitas metabolik dan keberlangsungan sel.¹⁰

METODE UJI SITOTOKSISITAS

Pengujian sitotoksitas adalah metode evaluasi yang digunakan untuk mengukur sejauh mana biomaterial dapat memengaruhi reaksi sel hidup ketika digunakan sebagai implant atau dalam konteks kultur sel. Pengujian ini mencakup pengamatan terhadap keberlangsungan hidup sel serta kemampuan sel untuk berkembang dalam kehadiran bahan biomaterial tersebut.

Uji sitotoksitas yang efektif digunakan untuk menguji biomaterial berbentuk spons scaffold antara lain

a. MTS Assay

Uji MTS (Metode Kolorimetri 5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4,5-dimetil-tiazolil)-3-(4-sulfophenil) inner salt) adalah metode kolorimetri yang mengukur viabilitas sel dengan mengubah garam tetrazolium menjadi formazan berwarna melalui aktivitas mitokondria sel hidup.¹¹ Kuantitas formazan yang

dihasilkan berkaitan dengan jumlah sel hidup dalam kultur dan dapat diukur pada panjang gelombang 492 nm menggunakan spektrofotometer.¹²

Sejumlah penelitian terdahulu telah mengonfirmasi bahwa uji MTS memiliki karakteristik yang sesuai sebagai sistem pengukuran yang efisien, akurat, dan mampu memberikan indikasi toksisitas secara cepat.¹³ Dalam konteks pengujian biomaterial berbentuk spons, uji MTS dapat menjadi pilihan yang sesuai untuk mengukur viabilitas sel dalam sistem kultur tiga dimensi (3D), seperti yang ditemukan pada bahan berbentuk spons. Hal ini karena uji MTS memiliki keunggulan dalam pengukuran sel hidup dalam lingkungan kultur sel yang lebih kompleks dibandingkan dengan kultur sel dua dimensi (2D).¹⁴

Uji MTS memiliki potensi kekurangan yang perlu dipertimbangkan, termasuk pengaruh waktu inkubasi, jenis sel, jumlah sel, dan proporsi reagen MTS terhadap sel. Penelitian terdahulu menunjukkan hubungan linear antara waktu inkubasi dan absorpsi selama waktu inkubasi singkat hingga 5 jam, yang menyarankan bahwa uji ini mungkin kurang sesuai untuk pengukuran yang memerlukan hasil segera.¹⁵ Variabilitas respons sel berdasarkan jenis dan jumlah sel juga memengaruhi hasil, sehingga perhatian khusus terhadap kondisi eksperimental sangat penting. Pengaturan yang tepat terhadap proporsi reagen MTS juga menjadi faktor kunci untuk memastikan hasil yang konsisten. Oleh karena itu, dalam pemilihan metode pengukuran sitotoksitas, aspek karakteristik bahan dan jenis sel serta kebutuhan eksperimental harus diperhitungkan.¹⁶

b. Alamar Blue Assay

Metode Alamar Blue, yang juga dikenal sebagai uji reduksi resazurin, merupakan teknik yang mengevaluasi viabilitas dan proliferasi sel dalam berbagai jenis sel manusia dan hewan, termasuk bakteri dan fungi.¹⁷ Teknik ini memanfaatkan perubahan warna dari pewarna biru resazurin yang awalnya nonfluorescent menjadi warna merah muda yang sangat berfluoresensi, resorufin. Transformasi ini dipicu oleh berbagai enzim seluler, seperti diaphorases dan enzim mitokondria. Perubahan ini menjadi indikator yang berkorelasi dengan jumlah sel hidup.¹⁸ Resazurin berperan sebagai penerima elektron perantara dalam rantai transportasi elektron seluler, menggantikan peran oksigen molekuler. Pewarna ini aman digunakan dan mudah meresap ke dalam sel tanpa mengganggu proses seluler dari sel tersebut. Pada saat resazurin memasuki sel, ia mengalami reduksi menjadi resorufin, yang mengakibatkan perubahan warna yang mencolok dan dapat diukur.¹⁹ Kuantitas resorufin yang dihasilkan menjadi tolak ukur untuk menentukan jumlah sel yang hidup. Pengukuran ini dapat dilakukan dengan menggunakan pembaca mikro yang dilengkapi dengan filter eksitasi 560 nm dan emisi 590 nm.²⁰ Keunggulan dari Alamar Blue adalah kemampuannya yang sangat sensitif, serta sifat non radioaktifnya, larut dalam air (yang menghilangkan kebutuhan akan langkah-langkah pencucian tambahan), dan kemampuannya untuk dideteksi melalui spektroskopi absorpsi atau fluoresensi.²¹

Berkaitan dengan konteks pengujian biomaterial berbentuk spons, Alamar Blue merupakan solusi yang efisien dikarenakan memiliki karakteristik watersoluble. Hal ini berarti pengujian biomaterial tersebut tidak memerlukan langkah ekstraksi atau pemrosesan tambahan, yang biasanya diperlukan dalam metode lain. Keunggulan ini sangat bermanfaat dalam mengatasi

kompleksitas struktur biomaterial spons yang seringkali dihadapi dalam penelitian dengan uji lain.²² Sama seperti jenis pengujian yang lainnya, Alamar Blue assay ini tetap memiliki kekurangan, bahwa metodenya bergantung pada jalur metabolisme sel yang rentan dipengaruhi oleh kemampuan sel individu dalam melakukan reduksi dan oleh agen-agenya yang mempengaruhi aktivitas mitokondria atau memiliki efek langsung dalam mereduksi resazurin. Berkaitan dengan konteks ini, perubahan dalam aktivitas seluler atau pengaruh substansi tertentu pada kemampuan sel dalam mereduksi resazurin dapat memengaruhi hasil uji sitotoksitas.²³

c. ATP Assay

ATP adalah metode yang digunakan untuk menentukan konsentrasi adenosine tri-phosphate (ATP) dalam sel atau sampel biologis.²⁴ Prinsip dasar dari metode ini melibatkan reaksi luciferin menjadi oksiluciferin yang dikatalisis oleh enzim luciferase, dengan kehadiran ion Mg^{2+} dan ATP, menghasilkan sinyal luminensensi.²⁵ Tingkat konsentrasi ATP dalam sampel dapat dihitung berdasarkan intensitas sinyal luminensensi yang terdeteksi. Metode ATP assay sering digunakan sebagai alat untuk mengevaluasi keberlangsungan hidup sel.²⁶ Ketika sel mengalami kerusakan yang parah dan kehilangan integritas membran, mereka cenderung memiliki kadar ATP yang lebih rendah, yang tercermin dalam hasil luminensensi yang lebih rendah dalam metode ini.²⁷

Uji ATP memiliki beberapa keunggulan yang signifikan. Pertama, metode ini sangat cepat, dengan sinyal luminensensi yang stabil dalam waktu singkat, yaitu hanya 10 menit setelah penambahan reagen. Selain itu, Uji ATP sangat sensitif, mampu mendeteksi perubahan kecil dalam viabilitas sel.²⁸ Sifat cepat dan sangat sensitif ini menjadikan ATP sebagai pilihan yang tepat untuk mengevaluasi viabilitas sel dalam struktur 3D seperti spons. Keunggulan lainnya adalah minimasi risiko kesalahan dalam pengujian, sehingga hasil pengukuran menjadi lebih dapat diandalkan. Metode ini juga tidak memerlukan langkah inkubasi tambahan, menghemat waktu dan langkah dalam proses pengujian.²⁹ Kekurangan utama dalam uji ATP biasanya berasal dari masalah reproduktibilitas dalam mengambil sampel ulang, bukan disebabkan oleh masalah kimia atau metode uji itu sendiri. Artinya, sensitivitas uji ATP sering terbatas oleh ketidakpastian dalam pengambilan sampel ulang, yang dapat menghasilkan hasil yang kurang konsisten.³⁰

d. CCK-8 (WST-8)

Uji WST-8 merupakan metode kolorimetri yang digunakan untuk menghitung jumlah sel hidup dalam viabilitas sel dan dapat diterapkan dalam penelitian proliferasi sel maupun uji sitotoksitas. WST-8 (2-(2-metoksi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H tetrazolium, garam monosodium) yang sangat stabil dan larut dalam air, digunakan dalam Cell Counting Kit-8 (CCK-8). CCK-8 memiliki tingkat sensitivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan WST-1, terutama pada pH netral.³¹ Prinsip dasar dari WST-8 dalam uji sitotoksitas melibatkan metabolisme garam ini oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terletak di mitokondria sel, menghasilkan kristal formazan berwarna ungu. Intensitas warna ungu kemudian diukur menggunakan pembaca mikroplat pada panjang gelombang 450 nm. Intensitas warna ini berbanding lurus dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme, yang mencerminkan tingkat viabilitas sel.³²

Keunggulan WST-8 dalam penggunaannya di uji CCK-8 adalah ketidakampuannya menembus sel, sehingga memiliki tingkat sitotoksitas yang rendah. Dengan demikian, eksperimen lebih lanjut dapat dilakukan dengan menggunakan sel yang sama setelah uji selesai.³³ Selain itu, WST-8 menghasilkan formazan yang larut dalam air setelah mengalami reduksi seluler, yang mengakibatkan prosedur uji yang lebih sederhana dan tidak memerlukan langkah tambahan untuk melarutkan formazan.³⁴ Pada konteks pengujian pada biomaterial berbentuk spons, seperti spons atau struktur berpori, WST-8 cocok digunakan karena karakteristiknya yang sejalan dengan struktur berpori bahan sponge. Struktur berpori ini memungkinkan sel-sel tumbuh di dalam pori-pori dan ruang-ruang bahan tersebut. Dengan rendahnya permeabilitas sel oleh WST-8, struktur berpori bahan sponge tetap dapat berfungsi tanpa gangguan. Hal ini berarti bahwa uji dengan WST-8 pada sel yang tumbuh dalam struktur berpori tidak akan mengganggu integritas sel dan tidak akan menghasilkan tingkat sitotoksitas yang tinggi.³⁵ CCK-8 memiliki kekurangan juga berkaitan dengan perubahan dalam pengukuran substrat uji dipengaruhi oleh perubahan dalam aktivitas metabolik intraseluler yang tidak berdampak langsung pada viabilitas sel secara keseluruhan. Hal ini berarti bahwa perubahan dalam aktivitas metabolisme sel dalam inti dapat memengaruhi hasil uji, namun hasil ini tidak selalu mencerminkan secara tepat kondisi keseluruhan viabilitas sel. Hal ini dapat mengakibatkan potensi interpretasi yang lebih rumit terhadap hasil uji dan memerlukan pemahaman yang lebih mendalam dalam menganalisis data sitotoksitas.³⁶

e. MTT Assay

Uji MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) adalah salah satu metode kolorimetri yang umum digunakan dalam evaluasi sitotoksitas sel. Metode ini difokuskan pada penentuan viabilitas sel dengan mengukur aktivitas enzim mitokondria, seperti suksinat dehidrogenase, yang mencerminkan fungsi mitokondria sel.³⁷ Dalam pengujian ini, senyawa MTT mengalami reduksi menjadi bentuk formazan berwarna ungu, yang disebabkan oleh kemampuan enzim oksidoreduktase seluler yang bergantung pada nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) untuk mengurangi pewarna tetrazolium MTT menjadi bentuk formazan yang tidak larut. Absorbansi larutan berwarna ungu ini dapat diukur pada panjang gelombang tertentu (biasanya antara 500 hingga 600 nm) menggunakan spektrofotometer.³⁸

Metode uji ini memiliki keunggulan dalam hal kemudahan penggunaan, keamanan, reproduktibilitas yang tinggi, serta aplikasi yang luas dalam menilai viabilitas sel dan uji sitotoksitas.³⁹ Berkaitan dengan biomaterial berbentuk sponge, metode ini merupakan salah satu jenis uji sitotoksitas yang sering digunakan untuk pengujian sponge. Namun, ada beberapa kekurangan yang perlu diperhatikan. Salah satunya adalah ketidaklarutan kristal formazan MTT dalam air, sehingga memerlukan penggunaan pelarut organik, yang dapat meningkatkan kompleksitas prosedur.⁴⁰ Selain itu, formazan MTT memiliki sifat sitotoksik yang dapat berdampak pada kesehatan sel, menyebabkan potensi kesalahan dalam uji sitotoksitas. Kesulitan dalam menghilangkan media kultur sel juga merupakan tantangan, karena formazan MTT membentuk kristal dalam sel yang sulit dihilangkan, dapat menyebabkan kesalahan dalam pengukuran absorbansi.⁴¹

KESIMPULAN

Biomaterial scaffolds, termasuk yang berbentuk spons, memegang peran penting dalam rekayasa jaringan dan regenerasi tulang. Uji sitotoksitas merupakan langkah kritis dalam memastikan keamanan dan kompatibilitas biologisnya sebelum diterapkan dalam konteks kedokteran gigi atau aplikasi medis lainnya. Pemilihan metode uji sitotoksitas yang sesuai sangat tergantung pada karakteristik struktural biomaterial. Berkaitan dengan konteks biomaterial berbentuk spons atau berstruktur pori, metode uji MTS, Alamar Blue, ATP, CCK-8, dan MTT memiliki relevansi yang signifikan. Masing-masing metode memiliki keunggulan dan kelemahan dalam aplikasinya untuk menguji biomaterial dalam bentuk ini. Alamar Blue dan CCK-8 muncul sebagai opsi yang paling sesuai untuk biomaterial scaffolds berbentuk spons. Alamar Blue, dengan sifat watersoluble-nya, tidak memerlukan langkah ekstraksi tambahan, sehingga dapat efisien digunakan pada biomaterial berpori, mengatasi kompleksitas struktur yang dimilikinya. Di sisi lain, CCK-8, menggunakan WST-8, cocok untuk biomaterial berpori dan memberikan keuntungan minimnya risiko kesalahan dalam pengujian, sehingga hasil pengukuran menjadi lebih dapat diandalkan. Sifat non-permeabilitas sel oleh WST-8 juga memungkinkan pengujian tanpa mengganggu integritas sel.

DAFTAR PUSTAKA

- Chinnasami H, Dey MK, Devireddy R. Three-dimensional scaffolds for bone tissue engineering. *Bioengineering*. 2023;10(7):759. doi:10.3390/bioengineering10070759
- Zhou J, Xiong S, Liu M, Yang H, Wei P, Yi F, et al. Study on the influence of scaffold morphology and structure on osteogenic performance. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 2023;11.
- Hoque E, Nuge T, Tshai KY, Nordin NN, Prasad V. Gelatin based scaffolds for tissue engineering – A review. *Polymers Research Journal*. 2015;9:15–32.
- Hirsch C, Schildknecht S. In vitro research reproducibility: keeping up high standards. *Frontiers in Pharmacology*. 2019;10.
- Zubair MS, Lallo S, Yunovilsa Putra M, Hadi TA, Jantan I. Antibacterial and cytotoxic activities of sponges collected off the coast of Togean Islands, Indonesia. *Pharmacognosy Journal*. 2018;10(5):988–992.
- Wang Y, Nguyen DT, Yang G, Anesi J, Kelly J, Chai Z, et al. A modified MTS proliferation assay for suspended cells to avoid the interference by hydralazine and β -mercaptoethanol. *ASSAY and Drug Development Technologies*. 2021;19(3):184–190.
- Longhin EM, El Yamani N, Rundén-Pran E, Dusinska M. The Alamar blue assay in the context of safety testing of nanomaterials. *Frontiers in Toxicology*. 2022;4.
- Hammerstein AF, Wylie PG. Accurate cytotoxicity and proliferation determination: Advantages of a high-throughput phenotypic approach over ATP luminescence assays. *ASSAY and Drug Development Technologies*. 2016;14(7):407–415.
- Jiao G, He X, Li X, Qiu J, Xu H, Zhang N, et al. Limitations of MTT and CCK-8 assay for evaluation of graphene cytotoxicity. *RSC Advances*. 2015;5(66):53240–53244.
- Benov L. Effect of growth media on the MTT colorimetric assay in bacteria. *PLOS ONE*. 2019;14(8).
- Kuete V, Karasmanoglu O, Sivas H. Anticancer activities of African medicinal spices and vegetables. In: Elsevier eBooks [Internet]. 2017. 271–297.
- Erkekoğlu P, Baydar T, Güneş İ. In vitro sitotoksikite testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. 2021;41(1):45–63.
- Arab-Bafrani Z, Shahbazi-Gahrouei D, Abbasian M, Fesharaki M. Multiple MTS assay as the alternative method

- to determine survival fraction of the irradiated HT-29 colon cancer cells. *Journal of Medical Signals Sensing*. 2016;6:112-116.
14. Aslantürk ÖS. In vitro cytotoxicity and cell viability assays: Principles, advantages, and disadvantages. In: *InTech eBooks* [Internet]. 2018.
 15. Buttke TM, McCubrey JA, Owen TC. Use of an aqueous soluble tetrazolium/forazan assay to measure viability and proliferation of lymphokine-dependent cell lines. *Journal of Immunological Methods*. 1993;157(1-2):233-240.
 16. Wang P, Henning SM, Heber D. Limitations of MTT and MTS-Based assays for measurement of antiproliferative activity of green tea polyphenols. *PLOS ONE*. 2010;5(4):10202.
 17. Longhin E, Yamani NE, Runden-Pran E, Dušinská M. The alamar blue assay in the context of safety testing of nanomaterials. *Frontiers in Toxicology*. 2022;28(4).
 18. Kamiloglu S, Sarı G, Özdağ T, Çapanoğlu E. Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers* [Internet]. 2020;1(3):332-349.
 19. O'Neill T, Li H, Colquhoun CD, Johnson JA, Webster D, Gray CA. Optimisation of the Microplate Resazurin Assay for Screening and Biosay-guided Fractionation of Phytochemical Extracts against *Mycobacterium tuberculosis*. *Phytochemical Analysis*. 2014;25(5):461-7.
 20. Zachari M, Chondrou PS, Pouliliou S, Mitrakas A, Abatzoglou I, Zois CE, et al. Evaluation of the Alamar Blue assay for adherent cell irradiation experiments. Dose-response. 2013;12(2):246-58.
 21. Pettit RK, Weber CA, Pettit GR. Application of a high throughput Alamar blue biofilm susceptibility assay to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 2009;8(1):28.
 22. Zuppolini S, Borriello A, Pellegrino M, Venditto V, Ambrosio L, Nicolais L. Potential contact and intracellular lenses based on hydrophilic/hydrophobic sulfonated syndiotactic polystyrene membranes. *Journal of King Saud University - Science*. 2017 Oct 1;29(4):487-93.
 23. Erikstein BS, Hagland HR, Nikolaisen J, Kulaviec M, Singh KK, Gjertsen BT, et al. Cellular stress induced by resazurin leads to autophagy and cell death via production of reactive oxygen species and mitochondrial impairment. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2010 Jun 21;111(3):574-84.
 24. Lomakina GYu, Modestova YuA, Ugarova NN. Bioluminescence assay for cell viability. *Biochemistry (Moscow)*. 2015 Jun 1;80(6):701-13.
 25. Ihssen J, Jovanović N, Širc T, Spitz U. Real-time monitoring of extracellular ATP in bacterial cultures using thermostable luciferase. *PLOS ONE*. 2021 Jan 22;16(1):e0244200.
 26. Mempo R, Tran H, Chen C, Gong H, Ho KK, Lu S. Release of extracellular ATP by bacteria during growth. *BMC Microbiology*. 2013 Dec 1;13:301.
 27. Liao S, Gong G, Wang X, Tian L. Membrane damage mechanism of protocatechualdehyde against *Micrococcus luteus* and its effect on pork quality characteristics. *Scientific Reports*. 2022 Nov 7;12(1):18856.
 28. Karakaş D, Arı F, Ulukaya E. The MTT viability assay yields strikingly false-positive viabilities although the cells are killed by some plant extracts. *Turkish Journal of Biology*. 2017 Jan 1;41:919-25.
 29. Arroyo MG, Ferreira AM, Frota OP, Rigotti MA, De Andrade D, Brizzotti NS, et al. Effectiveness of ATP bioluminescence assay for presumptive identification of microorganisms in hospital water sources. *BMC Infectious Diseases*. 2017 Jun 30;17(1):458.
 30. Mazumdar P, Chowdhury D. *Manual of Laboratory Testing Methods for Dental Restorative Materials*. John Wiley & Sons; 2021.
 31. Chamchoy K, Pakotiprapha D, Pumrat P, Leartakulpanich U, Boonyuen U. Application of WST-8 based colorimetric NAD(P)H detection for quantitative dehydrogenase assays. *BMC Biochemistry*. 2019 Apr 8;20(1):4.
 32. Dona R, Frimayanti N, Ikhtiarudin I, Iskandar B, Maulana F, Silalahi NT. Studi In Silico, Sintesis, dan Uji Sitotoksik Senyawa P-Metoksi Kalkon terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *JSEK (Jurnal Sains Farmasi Klinis)* [Internet]. 2019 Dec 27;6(3):243.
 33. Stoddart MJ. WST-8 Analysis of cell viability during osteogenesis of human mesenchymal stem cells. In: *Methods mol biol*. 2011;740:21-5.
 34. Lin S, Yang L, Gu C, Li B, Chen D, Li L, et al. Pathogenic features and characteristics of food borne pathogens biofilm: Biomass, viability and matrix. *Microbial Pathogenesis*. 2017 Oct 1;111:285-91.
 35. Boffito M, Servello L, Arango-Ospina M, Miglietta S, Tortorici M, Sartori S, et al. Custom-Made Poly(urethane) Coatings Improve the Mechanical Properties of Bioactive Glass Scaffolds Designed for Bone Tissue Engineering. *Polymers*. 2021;14(1):151.
 36. Damiani E, Solorio JA, Doyle AP, Wallace HM. How reliable are in vitro IC50 values? Values vary with cytotoxicity assays in human glioblastoma cells. *Toxicology Letters*. 2019 Mar 1;302:28-34.
 37. Buranaamnuay K. The MTT assay application to measure the viability of spermatozoa: a variety of the assay protocols. *Open Veterinary Journal*. 2021 Jan 1;11(2):251.
 38. Nair A, Nayak M, Prasad LK, Shetty V, Kumar CNV, Nair RR. Comparative Evaluation of Cytotoxicity and Genotoxicity of Two Bioceramic Sealers on Fibroblast Cell Line: An in vitro Study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 2018 Jan 1;19(6):656-61.
 39. Aslantürk ÖS, Çelik TA, Karabey B, Karabey F. Active Phytochemical Detecting, Antioxidant, Cytotoxic, Apoptotic Activities of Ethyl Acetate and Methanol Extracts of *Galium aparine* L. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 2017 Jan 10;15(6):1-16.
 40. Van Tonder A, Joubert AM, Cronmury AD. Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Research Notes*. 2015 Feb 20;8(1).
 41. Karakaş D, Arı F, Ulukaya E. The MTT viability assay yields strikingly false-positive viabilities although the cells are killed by some plant extracts. *Turkish Journal of Biology*. 2017 Jan 1;41:919-25.

Metode uji sitotoksisitas biomaterial dengan bentuk scaffold padatan dan berpori spons

ORIGINALITY REPORT

8%

SIMILARITY INDEX

8%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

2%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

repository.unair.ac.id

Internet Source

3%

2

digilib.unila.ac.id

Internet Source

2%

3

Submitted to Syiah Kuala University

Student Paper

1%

4

pdffox.com

Internet Source

1%

5

repository.maranatha.edu

Internet Source

1%

Exclude quotes On

Exclude matches

< 15 words

Exclude bibliography On