

DENTIN
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol VI. No 2. Agustus 2022

**UJI TOKSISITAS KITOSAN SISIK IKAN HARUAN (*Channa striata*)
 TERHADAP SEL VERO**

Azwar Fida Maulana¹⁾, Deby Kania Tri Putri²⁾, Aulia Azizah³⁾

¹⁾Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

²⁾Departemen Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

³⁾Departemen Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

ABSTRACT

Background: Periodontal disease is one of the oral disease problems that still need attention. These diseases are among the diseases with the second highest number of sufferers after caries. Periodontitis is a multifactorial that causes inflammation of the periodontal tissue. Periodontitis is caused by bacteria that trigger infectious diseases in the supporting tissues of the teeth. Haruan fish scale chitosan has potential as an antimicrobial, because it contains lysozyme enzymes and aminopolysaccharida groups that can inhibit microbial growth. Haruan fish scale chitosan in suppressing bacterial growth is due to its positively charged polycation. **Objective:** To analyze whether haruan fish scale chitosan is toxic at concentrations of 20%, 40%, 75% and 100% against vero cells. **Methods:** This study used a true experimental type with a post-test-only design with a control group design to test the toxicity of chitosan do vero cell with concentrations 20%, 40%, 75% and 100% using MTT assay method. The study used 4 treatment groups and 2 control groups with 4 repetitions. Data analyzed with probit analysis. **Results:** The largest cell viability values were concentrations of 100% and 75% of 100%, 40% of 81.4% and 20% concentration of 68.1%. Chitosan with concentrations of 20%, 40%, 75% and 100% was said to be non-toxic due to cell viability 60%. Value IC_{50} 93103,354 $\mu\text{g/mL}$ > 1000 $\mu\text{g/mL}$ categorized non-toxic. **Conclusion:** Haruan fish scale chitosan with concentrations of 20%, 40%, 75% and 100% against vero was tested to vero cells was not have toxic effect.

Keywords: Chitosan, Toxicity, Vero cells.

ABSTRAK

Latar Belakang: Penyakit periodontal termasuk penyakit dengan penderita tertinggi kedua setelah karies. Periodontitis merupakan penyakit peradangan jaringan periodontal. Periodontitis disebabkan oleh bakteri pemicu infeksi pada jaringan penyangga gigi. Kitosan sisik ikan haruan memiliki potensi sebagai antimikroba, karena mengandung enzim lisosim dan gugus *aminopolysaccharida* yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Kitosan sisik ikan haruan menekan pertumbuhan bakteri karena memiliki polikation bermuatan positif. **Tujuan:** Menganalisis apakah kitosan sisik ikan haruan bersifat toksik pada konsentrasi 20%, 40%, 75% dan 100% terhadap sel vero. **Metode:** Penelitian ini menggunakan jenis *true experimental* dengan rancangan *post test-only with control group design* untuk menguji toksisitas kitosan sisik ikan haruan terhadap sel vero dengan konsentrasi 20%, 40%, 75% dan 100% dengan metode MTT assay. Penelitian menggunakan 4 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol dengan 4 pengulangan. Data dianalisis menggunakan analisis probit. **Hasil:** Nilai viabilitas sel terbesar adalah konsentrasi 100% dan 75% sebesar 100%, 40% sebesar 81,4% dan konsentrasi 20% sebesar 68,1%. Kitosan dengan konsentrasi 20%, 40%, 75% dan 100% dikatakan tidak toksik dikarenakan viabilitas sel $\geq 60\%$. Nilai IC_{50} 93103,354 $\mu\text{g/mL}$ > 1000 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori tidak toksik. **Kesimpulan:** Kitosan sisik ikan haruan dengan konsentrasi 20%, 40%, 75% dan 100% yang diujikan terhadap sel vero tidak memiliki sifat toksik.

Kata kunci: Kitosan, Sel Vero, Toksisitas.

Korespondensi: Azwar Fida Maulana ; Program Studi Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Jalan Veteran No. 128B, Banjarmasin, Kalimantan Selatan, email: azwarfidamaulana@gmail.com

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan salah satu masalah penyakit mulut yang masih perlu mendapat perhatian. Riskesdas (2018) menyatakan persentase penduduk yang mempunyai masalah penyakit periodontal mencapai 57,6%. Penyakit tersebut termasuk penyakit dengan penderita tertinggi kedua setelah karies. Penyakit periodontal dimulai dari adanya plak yang menempel pada permukaan gigi. Mekanisme plak didahului terbentuknya *acquired pellicle* pada permukaan gigi yang berwarna transparan. Pelikel terdiri dari glikoprotein yang diendapkan oleh saliva yang terbentuk setelah penyikatan gigi, diikuti dengan adhesi awal bakteri planktonik pada lapisan pelikel pada daerah perikatan, selanjutnya yaitu pematangan bakteri *biofilm* dan *biofilm* berdispersi dengan melepaskan sel/kelompok sel.^{1,2} Plak merupakan masalah utama dalam rongga mulut yang dapat menimbulkan penyakit infeksi pada jaringan lunak seperti gingivitis dan periodontitis. Bakteri yang terlibat antara lain *Streptococcus sanguinis* dan *Porphyromonas gingivalis*. Salah satu penyakit periodontal yang sering ditemui di masyarakat adalah periodontitis.³

Periodontitis merupakan penyakit multifaktorial penyebab peradangan pada jaringan periodontal, periodontitis disebabkan oleh bakteri pemicu penyakit infeksi pada jaringan penyangga gigi, penyakit tersebut dapat mengakibatkan kerusakan tulang alveolar dan ligamen periodontal yang membentuk poket atau terjadinya resesi maupun keduanya. Prevalensi periodontitis di Indonesia diketahui sekitar 74,1%.^{4,5} Perawatan periodontitis umumnya dilakukan secara kimia dengan obat-obatan dan secara mekanis dengan *Scaling Root Planning* yaitu menghilangkan deposit keras dan lunak serta bakteri yang menempel pada permukaan gigi dan dalam subgingiva, sehingga mengeliminasi bakteri. Pemberian antimikroba secara sistemik per oral ataupun lokal dianjurkan untuk meningkatkan hasil terapi SRP.⁶

Keanekaragaman ikan air tawar di Indonesia sangat tinggi bahkan di Asia maupun di dunia. Zona zoografi Kalimantan Selatan ditemukan 24 famili ikan air tawar salah satunya *Channidae*. Ikan haruan (*Channa striata*) merupakan salah satu jenis ikan yang banyak dikonsumsi.⁷ Limbah ikan haruan sangat melimpah dan belum dimanfaatkan secara optimal serta berdaya guna, bahkan sebagian besar merupakan buangan yang juga turut mencemari lingkungan.⁸ Salah satu alternatif upaya pemanfaatan limbah ikan haruan agar dapat memiliki nilai dan daya guna menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi adalah dengan pengolahan limbah sisik ikan haruan menjadi kitosan.⁹

Kitosan merupakan bahan yang mempunyai sifat biokompatibilitas, biodegradabilitas, bioadesi, dan bersifat non toksik terhadap sel manusia.¹⁰ Kitosan sisik ikan haruan memiliki potensi sebagai bahan antimikroba, karena mengandung enzim lisosim dan gugus *aminopolysacharida* yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba.¹¹ Kemampuan kitosan sisik ikan haruan dalam menekan pertumbuhan bakteri disebabkan karena memiliki polikation bermuatan positif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri.³ Kandungan yang dimiliki oleh kitosan sisik ikan haruan salah satunya adalah gugus amina. Gugus amina yang terkandung dalam kitosan memiliki efek toksik untuk sel yang dipengaruhi oleh dosis dan konsentrasi paparan bahan kimia yang diberikan.¹² Syarat bahan yang boleh dipergunakan dalam kedokteran gigi adalah tidak toksik. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk menguji toksisitas bahan sebagai bahan *screening standart* yang digunakan dalam kedokteran gigi.¹³

Salah satu metode untuk menguji nilai toksik suatu material adalah metode MTT assay. Tes ini didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT yang berwarna kuning dan larut ke dalam deposit formazan yang ungu dan tidak larut.¹⁴ Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian adalah sel vero. Hasil tes menggunakan sel vero dapat digunakan sebagai dasar untuk pengujian yang akurat.¹⁵ Parameter uji toksisitas adalah nilai IC₅₀ yakni nilai konsentrasi yang menghambat pertumbuhan pada sel sebanyak 50% dari populasi sel dan membuktikan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel.^{14,16} Berdasarkan hal di atas maka perlu dilakukan penelitian tentang uji toksisitas sel vero setelah diberikan kitosan sisik ikan haruan.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental* atau eksperimental murni dengan rancangan *posttest only with control group design*. Penelitian ini telah dinyatakan laik etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat dengan No. No. 051/KEPKG-FKGULM/EC/III/2021. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin untuk pengambilan bahan kitosan dan Laboratorium Dengue Universitas Airlangga Surabaya untuk uji toksisitas kitosan sisik ikan haruan. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok sampel 4 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol dengan pengulangan 4 kali.

Alat dan Bahan

Bahan untuk penelitian ini yaitu kitosan, sel vero, media MEM, MTT, FBS 10% untuk kultur sel, *trypsin*-EDTA dan *dimetil sulfoksida* (DMSO) untuk melarutkan ekstrak dalam medium dan sebagai larutan *stopper*. Alat yang digunakan pada penelitian yaitu sentrifugal *plc series*, blender, kertas saring *witmann no. 1*, *autoclave*, *microplate* 96 well, inkubator CO₂, *laminary air flow*, *flask*, *conical tube*, *yellow tip*, sentrifugal, ELISA reader, mikropipet, hemositometer dan mikroskop *inverted*.

Pembuatan Kitosan

Pada tahap deproteinasi, isolasi kitin sisik ikan yang sudah hancur dilakukan pencucian. Sisik ditempatkan di 1000 ml gelas dan direndam dalam natrium hidroksida yang mendidih (4% b/v) dalam satu jam yang bertujuan untuk melarutkan protein dan gula dan didapatkan kitin mentah. Larutan NaOH 4% dengan perbandingan serbuk dan larutan yaitu 1:4 b/v untuk persiapan kitin. Sampel direbus dalam natrium hidroksida, gelas kimia yang mengandung sampel sisik ikan dan didinginkan selama 30 menit pada suhu kamar dan dilakukan penyaringan residu sampel. Sampel dicuci berkali-kali menggunakan aquades hingga mendapatkan *pH* netral. Selanjutnya, residu sampel disaring kembali dan dimasukkan kedalam oven dikeringkan selama 24 jam dengan suhu 50°C. Selanjutnya dilakukan penimbangan sampel hasil deproteinasi dan dilakukan pencatatan.¹¹ Sisik-sisik didemineralisasi dengan 1% HCl perbandingan serbuk dan larutan 1:4 b/v dan direndam 24 jam untuk menghapus mineral. Residu sampel disaring dan sampel dicuci berkali-kali menggunakan aquades hingga *pH* netral. Selanjutnya sampel yang sudah netral dimasukkan kedalam oven selama 24 jam dengan suhu 50°C dan dilakukan penimbangan pada sampel hasil demineralisasi dan dilakukan pencatatan kembali. Senyawa kitin sebelum diubah menjadi kitosan harus melalui deasetilasi.¹¹ Kitin direaksikan dengan I₂-KI 1% yang memberikan warna kuning kecokelatan, kemudian ditambahkan H₂SO₄ 1 M menjadi warna merah keunguan. Perubahan warna dari kuning kecokelatan menjadi merah keunguan menunjukkan adanya kitin.¹¹ Proses deasetilasi menggunakan larutan NaOH 50% dengan perbandingan serbuk dan larutan yaitu 1:4 b/v dan direbus selama 2 jam dengan suhu 100° di *hot plate*. Sampel didinginkan selama 30 menit di suhu kamar. Sampel dicuci dengan NaOH 50 % yang sudah dingin dan disaring residunya. Kemudian, sampel dicuci dengan aquades hingga *pH* netral dan disaring untuk mempertahankan zat padat, yaitu kitosan. Sampel kemudian dikeringkan di dalam oven selama 24 jam pada suhu 50°C dan

dilakukan penimbangan. Kitosan yang diperoleh dari hasil deasetilasi dalam bentuk serbuk berwarna putih.¹⁷

Persiapan Sel Vero

Tahapan penyiapan kultur sel petama menyiapkan sel vero dalam keadaan beku lalu cairkan di waterbath dengan suhu 37°C. Kedua pembuatan kultur sel vero dengan media MEM dan FBS 10% inkubasi selama 48 jam sampai sel memenuhi botol lalu buang medium. Ketiga cuci sel menggunakan larutan PBS untuk menguraikan gumpalan sel. Keempat ditambahkan *trypsin*-EDTA sebanyak 1 ml dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 menit sampai terlihat ada tanda sel mulai terlepas dari *flask* sel. Kelima 5 ml media kultur MEM disuplementasi dengan 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS) ditambahkan agar *trypsin*-EDTA menjadi tidak aktif. Keenam sel dibilas di dalam media dengan menggunakan pipet secara perlahan untuk menguraikan gumpalan sel. Suspensi sel dipindahkan dari *flask* ke dalam *conical tube* 15 ml steril kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada suhu ruangan. Ketujuh supernatan dibuang dari suspensi sel kembali menggunakan 10 ml MEM dengan 10% FBS. Pengenceran sel yang diinginkan dipersiapkan dari total 12-20 ml MEM dengan 10% FBS dan ditambahkan ke dalam *flask* kultur sel.¹⁸

Metode MTT assay

Tahapan uji toksisitas kitosan sisik ikan haruan pertama sediaan sel vero yang telah siap dalam *microplate well* (Kolom 1 adalah kontrol sel (KS), 4 sampel dengan 4 kali perlakuan. Kedua beri perlakuan pada sel vero dengan kitosan sisik ikan haruan sesuai konsentrasi yaitu 20%, 40%, 75% dan 100% serta kontrol media sebanyak 0,25 µL untuk setiap well. Ketiga inkubasi selama 24 jam dengan menggunakan inkubator CO₂. Keempat setelah diinkubasi, sampel dibuang dan ditambahkan larutan media MEM dan FBS dibuang pada botol penampung. Kelima *microplate* di cuci dengan PBS sebanyak 3 kali, ini bertujuan membuang sisa serum yang tersisa. Keenam ditambahkan reagen MTT sebanyak 10 µL untuk setiap well. Ketujuh inkubasi kembali selama 4 jam menggunakan inkubator CO₂. Kedelapan setelah inkubasi, larutan MTT dibuang dan reaksi antara MTT dengan sel dihentikan dengan pemberian stopper DMSO. Kesembilan *microplate* di shaker selama 5 atau 10 menit agar penghentian reaksi dapat terjadi secara merata pada setiap sel sehingga mengeluarkan formazan.¹⁸

Uji Toksisitas Menggunakan ELISA reader

Microplate well dimasukkan ke dalam ELISA reader dengan panjang gelombang 595 nm untuk

proses pembacaan viabilitas sel. Kesebelas matikan kembali ELISA reader lalu buat catat data absorbansi. Kedua belas hitung persentase viabilitas sel dan analisis menggunakan IC_{50} dengan SPSS (Analisis probit) dengan menggunakan rumus persentase viabilitas $= \frac{(ODP-ODM) \times 100\%}{(ODKS-ODM)}$. Ketiga belas setelah dilakukan uji toksisitas, dilakukan pembuangan kultur sel vero.¹⁸

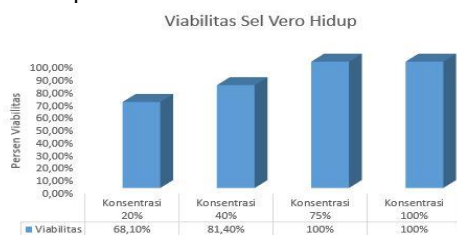
HASIL

Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat ELISA reader untuk membaca nilai absorbansi sel hidup. Keempat sampel perlakuan dengan kontrol sel serta kontrol media.



Gambar 1. Rata-rata Absorbansi Kitosan Sisik Ikan Haruan Terhadap Sel Vero.

Berdasarkan grafik tersebut dapat dilihat rata-rata presentase viabilitas sel vero dari berbagai konsentrasi kitosan sisik ikan haruan. Dosis yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan sel vero hingga 50% (IC_{50}) dihitung berdasarkan dosis dan persentase penghambatan oleh senyawa uji dengan analisis probit.



Gambar 2. Grafik Rerata Jumlah Viabilitas Sel Vero Hidup Pada Setiap Perlakuan.

Berdasarkan grafik tersebut menunjukkan bahwa setiap kenaikan konsentrasi kitosan sisik ikan haruan selalu diikuti dengan kenaikan presentase viabilitas sel. Semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka semakin tinggi presentase viabilitas pada sel vero. Nilai viabilitas sel terbesar adalah konsentrasi 100% dan 75% sebesar 100%, 40% sebesar 81,4% dan konsentrasi 20% sebesar 68,1%. Kitosan dengan konsentrasi 20%, 40%, 75% dan 100% dikatakan tidak toksik dikarenakan viabilitas sel $\geq 60\%$.¹⁹

Tabel 1. Hasil Analisis SPSS.

Nilai IC_{50}	Lower Bound	Upper Bound
93103,354 $\mu\text{g/mL}$	-38159,934 $\mu\text{g/mL}$	166442,707 $\mu\text{g/mL}$

Hasil uji probit didapatkan nilai pada penelitian ini adalah IC_{50} 93103,354 $\mu\text{g/mL}$ dengan lower bound -38159,934 $\mu\text{g/mL}$ dan upper bound 166442,707 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Balantye dalam Mardja dkk, (2016) IC_{50} berkisar >1000 $\mu\text{g/mL}$ dikategorikan tidak toksik, sehingga dapat disimpulkan bahwa kitosan sisik ikan haruan tidak bersifat toksik terhadap sel vero.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan uji toksisitas kitosan sisik ikan haruan dan dilakukan dengan metode MTT assay. Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi yang mampu menghambat sel sebanyak 50% dari populasinya.²⁰ Nilai IC_{50} dapat digunakan untuk mengetahui apakah kitosan sisik ikan haruan bersifat toksik terhadap sel vero.

Nilai IC_{50} didapatkan setelah sel vero diberikan pewarnaan dengan menggunakan metode MTT assay kemudian diukur dengan ELISA reader. Sel vero ini berasal dari sel ginjal yang normal. Karena sel tidak berubah, mereka tidak kehilangan contact inhibition. Ketika sel-sel ini mencapai contact inhibition, mereka berhenti tumbuh dan mulai mati. Oleh karena itu, sangat penting untuk memantau sel vero dan melakukan subkultur mereka karena mereka membentuk monolayers konfluen. Kultur sel vero yang tumbuh secara aktif berlipat ganda kira-kira setiap 24 jam.²¹

Prinsip metode MTT assay adalah pereduksian garam tetrazolium MTT yang berwarna kuning oleh sistem reduktase. Reagen MTT yang berpaparan dengan sel hidup akan berwarna ungu serta tidak larut dalam air pada sel hidup, sehingga semakin banyak intensitas warna ungu yang dihasilkan maka jumlah sel yang hidup semakin banyak. Hal ini dikarenakan reagen MTT yang berpaparan dengan sel hidup berubah menjadi garam formazan yaitu suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi mitokondria yang menghasilkan enzim dehidrogenase membentuk kristal formazan.^{22,23}

Kitosan terdiri atas tiga gugus fungsional reaktif, gugus amino baik gugus hidroksil primer maupun sekunder. Gugus amino (NH_2) dan gugus hidroksil (OH) di dalam kitosan merupakan kunci gugus fungsional dari aktifitas antioksidan pada kitosan.¹² Kitosan dari sisik ikan haruan mengandung senyawa antioksidan yang dapat menurunkan aktivitas radikal bebas seperti hidrogen peroksida, anion superoksida, dan ion Cu^{2+} dengan cara berikatan dengan ion-ion radikal

bebas. Antioksidan pada kitosan memiliki dua mekanisme dalam menghambat proses reaksi dari radikal bebas. Mekanisme pertama yaitu dengan cara melepaskan elektron dari antioksidan sehingga berikatan dengan radikal bebas dan mengubahnya menjadi bentuk molekul yang stabil. Mekanisme kedua yaitu dengan melepaskan ion hidrogen dari antioksidan dan berikatan dengan radikal bebas. Tubuh manusia secara alami memiliki sistem antioksidan dalam tubuhnya, namun apabila radikal bebas pada tubuh bertambah maka tubuh juga memerlukan antioksidan tambahan.²⁴

Antioksidan dari kitosan dapat sebagai bahan antioksidan alternatif apabila terbukti tidak toksik. Toksisitas dari kitosan sendiri dapat diketahui dengan melihat derajat deasetilasi apabila lebih dari 35% menunjukkan toksisitas yang rendah, sedangkan apabila derajat deasetilasinya dibawah 35% toksisitasnya bergantung pada dosis kitosan yang digunakan. Nilai kitosan menurut SNI adalah $\geq 75\%$, berdasarkan penelitian Putri dkk (2020) kitosan pada sisik ikan haruan memiliki derajat deasetilasi 85,25% yang berarti memiliki toksisitas rendah dan aktivitas antioksidan yang lemah.²⁵ Kitosan sisik ikan haruan memiliki sifat antioksidan yang rendah karena memiliki nilai $IC_{50} > 300$ ppm, oleh karena itu diperlukan kitosan dengan konsentrasi tinggi agar efek antioksidannya lebih kuat.²⁵

Hipotesis dari penelitian ini terbukti bahwa kitosan sisik ikan haruan terhadap sel vero memiliki nilai toksisitas IC_{50} tidak toksik. Nilai viabilitas sel terbesar adalah konsentrasi 100% dan 75% sebesar 100%, 40% sebesar 81,4% dan konsentrasi 20% sebesar 68,1%. Kitosan dengan konsentrasi 20%, 40%, 75% dan 100% dikatakan tidak toksik dikarenakan viabilitas sel $\geq 60\%$.¹⁹ Hal ini sejalan dengan penelitian Jacoeb dkk (2013) bahwa semakin rendah konsentrasi yang digunakan maka semakin rendah juga aktivitas antioksidan yang dapat mengakibatkan sel mati akibat paparan radikal bebas, sedangkan apabila semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi juga aktivitas antioksidan yang mengakibatkan sel banyak yang hidup setelah diberi perlakuan.

Hasil dari penelitian didapatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kitosan sisik ikan haruan maka semakin pekat juga warna ungu yang dihasilkan yang berarti viabilitas sel vero bertambah seiring dengan penambahan konsentrasi dari kitosan sisik ikan haruan. Warna ungu dari enzim *dehidrogenase* ini yang menjadi acuan untuk mengetahui viabilitas sel. Hal ini dikarenakan semakin banyak terjadinya reaksi MTT yang berpaparan dengan sel hidup maka akan semakin banyak garam formazan atau *suksinat tetrazolium* yang akan menghasilkan

enzim *dehidrogenase* yang berwarna ungu dan tidak larut air dalam sel hidup.²² Kitosan sisik ikan haruan dengan konsentrasi yang lebih rendah seperti 20% dan 40% memiliki antioksidan yang rendah sehingga tidak mampu untuk menghambat atau menghentikan aktivitas radikal bebas yang mengakibatkan kitosan sisik ikan haruan mampu menurunkan viabilitas sel vero. Hal ini sejalan dengan penelitian Saputra dan Kroesnadi (2020) bahwa kitosan bisa bersifat toksik tetapi tingkat toksisitasnya bergantung pada sumber kitosan dan kadar konsentrasinya.

Kitosan memiliki sifat biokompabilitas yang baik, namun kualitasnya dinilai berdasarkan dari sumber kitosan, derajat deasetilasi, konsentrasi kitosan, dan metode pembuatan. Kitosan juga bermanfaat dalam bidang kedokteran gigi yaitu sebagai bahan antibakteri.^{10,11} Sel vero tetap memiliki viabilitas sel yang tinggi setelah dipaparkan kitosan sisik ikan haruan konsentrasi terutama 75% dan 100% yang berarti tidak bersifat toksik pada sel vero. Berdasarkan hasil analisis probit didapatkan nilai $IC_{50} > 1000$ $\mu\text{g/mL}$ dan dapat disimpulkan bahwa kitosan sisik ikan haruan tidak bersifat toksik pada sel vero. Berdasarkan hal di atas maka dapat disimpulkan bahwa kitosan sisik ikan haruan bersifat tidak toksik terhadap sel vero.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ayoub H. M., Gregory R. L., Tang Q., Lippert F.. Influence of salivary conditioning and sucrose concentration on biofilm-mediated enamel demineralization. *J Appl Oral Sci.* 2020; 28: 1-6.
2. Ladytama R. S., Nurhapsari A, Baehaqi M. Efektivitas Larutan Ekstrak Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Sebagai Obat Kumur Terhadap Penurunan Indeks Plak Pada Remaja Usia 12 – 15 Tahun - Studi di SMP Nurul Islami, Mijen, Semarang. *ODONTO.* 2014; 1 (1): 39-43.
3. Jali R. D. A., Putri D. K. T., Taufiqurrahman I.. Antibacterial Activity Of Chitosan From Haruan (*Channa Striata*) Fish Scales Against The Growth Of *Porphyromonas gingivalis*. *JURNAL DENTINO KEDOKTERAN GIGI.* 2020; 5 (1): 53-56.
4. Tamara A., Oktiani B. W., Taufiqurrahman I.. Pengaruh Ekstrak Flavonoid Propolis Kelulut (*G.Thoracica*) Terhadap Jumlah Sel Netrofil Pada Periodontitis (Studi In Vivo Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan). *DENTINO JURNAL KEDOKTERAN GIGI.* 2019; 3 (1): 10-14.
5. Wijaksana I. K. E.. Periodontal Chart Dan Periodontal Risk Assessment Sebagai Bahan Evaluasi Dan Edukasi Pasien Dengan Penyakit

- Periodontal. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 2019; 6 (1): 19-25.
6. Andriani I.. Efektivitas Antara Scaling Root Planing (Srp) Dengan Dan Tanpa Pemberian Ciprofloxacin Per Oral Pada Penderita Periodontitis. *IDJ*. 2012; 1 (2): 81-87.
 7. Mabruur, Rahmy U. S. A., Sasmita R., Badruzaufari. Profil Protein Ikan Haruan (*Channa Striata*) Asal Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*. 2018; 3 (1): 39-45.
 8. Pamungkas B. F., Supriyadi, Murdiati A., Indrati R.. Ekstraksi Dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam Dan Pepsin Dari Sisik Haruan (*Channa Striatus*) Kering. *JPHPI*. 2018; 21 (3): 513-520.
 9. Dompeipen E. J., Kaimudin M., Dewa R. P.. Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Limbah Kulit Udang. *MAJALAH BIAM*. 2016; 12 (1): 32-38.
 10. Djaenudin, Budianto E., Saepudin E., Nasir M.. Ekstraksi Kitosan Dari Cangkang Rajungan Pada Lama Dan Pengulangan Perendaman Yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan*. 2019; 10 (1). 45-59.
 11. Hutami W. D. W., Putri D. K. T., Carabelly A. N., Kriswandini I. L., Pratiwi A. R., Luthfi M.. The Antibacterial Activity of Chitosan from Haruan (*Channa striata*) Fish Scales on the Growth of *Streptococcus sanguinis*. *Journal of Indonesian Dental Association*. 2020; 3 (2): 109-114.
 12. Aprillia D.. Potensi Kitosan sebagai Agen Antioksidatif pada Hepar yang Diinduksi Plumbum. *Majority*. 2015; 4 (8): 85-87.
 13. Sulastri S.. *DENTAL MATERIAL*. Indonesia; 2017. p. 61-62.
 14. Meerloo J. V., Kaspers G. J., Cloos J.. Cell Sensitivity Assays: The Mtt Assay. Ian A. Cree, Editor, *Cancer Cell Culture: Methods And Protocols Methods In Molecular Biology*. 2nd Ed, Vol. 731; 2011. p. 237-45.
 15. Marbawati D., Sarjiman. Konsentrasi Aman Kurkumin dan PGV-0 terhadap Sel Vero Berdasarkan Hasil Uji Sitotoksik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2015; 5 (2): 67-73.
 16. Amir H., Murcitra B. M.. Uji Microtetrazolium (MTT) Ekstrak Metanol Daun *Phaleria Macrocarpa* (scheff.) Boerl Terhadap Sel Kanker Payudara MCF. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2017; 1 (1): 27-30.
 17. Widyaningrum D. R. W., Putri D. K. T., Taufiqurrahman I.. Antibacterial Activities Of Chitosan In Haruan Fish Scales (*Channa Striata*) To The Growth Of *Staphylococcus aureus*. *DENTINO JURNAL KEDOKTERAN GIGI*. 2019; 4 (2): 162-166.
 18. Noviard H., Yuningtyas S., Agustin L.. Induksi Apoptosis Sel MCF-7 Kanker Payudara Dari Kombinasi Ekstrak Kulit Jengkol (*Archidendron Jiringa*) Dan Daun Petai Cina (*Leucaena Leucocephala*). *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. 2020; 6(2): 157-165.
 19. Saputri M. V., Carabelly A. N., Firdaus I. A. K.. Toxicity Test Of The Mixed Mouthwash Of Mauli Banana Stem And Basil Leaf Against Fibroblast Cell Study In Vitro. *DENTINO*. 2019; 4 (2): 151-154.
 20. Ningrum C. D. S., Saputera D., Arifin R.. Toxicity Test Of Bay Leaf Extract On BHK-21 Fibroblast Cells In Vitro. *Dentino*. 2019; 4(2): 178-182.
 21. Shen C. F., Guilbault C., Li X., Elahi S. M., Ansorge S., Kamen A., Gilbert R.. Development Of Suspension Adapted Vero Cell Culture Process technology For Production Of Viral Vaccines. *Vaccine*. 2019; 37: 6996-7002.
 22. Senthilraja P., Kathiresan P.. In vitro cytotoxicity MTT assay in Vero, HepG2 and MCF -7 cell lines study of Marine Yeast. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2015; 5 (3): 80-84.
 23. Suhendi A., Puspa F. E., Pawarti H.. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Pada Tikus Yang Diinduksi Dengan Rifampisinisoniazid. *Jurnal Kesehatan*. 2020; 13 (1): 69-77.
 24. Zulfa E., Nurkhasanah N., Nurani L. H.. Aktivitas Antioksidan Sediaan Nanopartikel Kitosan Ekstrak Etanol Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Pada Tikus Hiperkolesterol Terhadap Aktivitas Enzim SOD. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2014; 2(1) : 7-14.
 25. Putri D. K. T., Oktiani B. W., Candra, Adhani R.. Antioxidant Activity Potency Of Chitosan From Haruan (*Channa striata*) Scales. *DENTINO JURNAL KEDOKTERAN GIGI*. 2020; 5 (2): 139-144.