

Evaluasi Farmakologi Menggunakan Model Uji *In vitro*, *In vivo*, dan *Ex vivo*

Kinanthi Adinda Anggraeni¹, Inti Nurahmah Elfadhilah¹, Juwita Agnimaya Maharani¹, Aura Zahra Arviama Nugrahito¹

Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Jenderal Soedirman University, Indonesia.

ARTICLE HISTORY

Received: 30 January 2025

Revised: 09 February 2025

Accepted: 20 February 2025

*corresponding author

Email:

juwita.maharani@mhs.unsoed.ac.id

ABSTRAK

Modern pharmacology increasingly adopts an integrative approach to drug evaluation, examining not only dose-response relationships but also biological dynamics and interactions with molecular targets. This review assesses the strengths and weaknesses of *in vitro*, *in vivo*, and *ex vivo* models used in pharmacological testing. A systematic literature search was performed using PMC, NCBI, Google Scholar, and Elsevier databases, focusing on publications from 2020 to 2025. Out of 15 identified articles, 11 original studies met the inclusion criteria, while reviews, case reports, and studies lacking clear methodology were excluded.

Findings show that *in vitro* models offer high efficiency, precise variable control, and insight into molecular mechanisms but lack the complexity of whole-organism physiology. *Ex vivo* models better preserve tissue structure and function, enhancing translational relevance, though limited tissue availability and short viability pose challenges. In contrast, *in vivo* models provide the most comprehensive data on systemic effects, pharmacokinetics, and safety but face ethical constraints and higher costs. No single model is sufficient alone; combining all three approaches improves the predictive accuracy of preclinical studies and supports successful clinical applications.

Keywords: pharmacological evaluation, *ex vivo*, *in vivo*, *in vitro*

Copyright@author



PENDAHULUAN

Perkembangan terkini dalam bidang farmakologi menunjukkan adanya pergeseran menuju pendekatan integratif berbasis mekanisme dalam menilai efektivitas obat. Pendekatan ini tidak lagi terbatas pada hubungan dosis-respon secara konvensional, tetapi lebih menekankan pada dinamika farmakodinamik yang bergantung pada konteks biologis serta keterikatan obat dengan targetnya dalam sistem biologis yang relevan. Inovasi tersebut mencakup penggunaan alur kerja farmakologi kuantitatif, pemodelan farmakometrik, dan desain uji klinik adaptif yang menekankan validitas prediktif sejak tahap pra-klinik hingga klinik. Tujuannya ialah memastikan bahwa efektivitas yang diamati pada tahap awal benar-benar dapat diterjemahkan ke populasi pasien (Kondic *et al.*, 2022). Dengan demikian, pendekatan modern ini menjembatani kesenjangan antara aktivitas *in vitro* dan manfaat terapeutik *in vivo*, sekaligus mendukung proses pengambilan keputusan yang lebih tepat dalam pengembangan obat.

Model eksperimental tetap menjadi komponen utama dalam penelitian obat pra-klinik. Namun, fokus penelitian kini beralih pada pemilihan dan validasi model yang mampu merepresentasikan kondisi biologis manusia secara lebih akurat. Contohnya termasuk sistem hasil rekayasa genetik, model spesifik organ maupun jaringan, serta rancangan paparan dinamis yang mencerminkan kondisi fisiologis nyata (Soufizadeh *et al.*, 2024). Kesadaran akan keterbatasan tiap model mendorong lahirnya konsep integratif yang menggabungkan pemodelan komputasional, penanda biologis translasi, dan studi ko-klinik untuk meningkatkan nilai prediksi serta menurunkan risiko kegagalan pada tahap lanjut (Wang, Lu, *et al.*, 2024). Pendekatan ini memperkuat keterkaitan

antara sinyal efikasi pada tahap pra-klinik dengan hasil klinik yang sesungguhnya, sekaligus membentuk dasar pengembangan obat yang lebih efisien.

Beragam metode pengujian, seperti uji *in vitro*, *in vivo*, dan *ex vivo*, memiliki karakteristik serta keunggulan yang berbeda-beda. Uji *in vitro* memungkinkan analisis berkapasitas tinggi untuk mempelajari mekanisme kerja obat, meskipun sering kali tidak mencerminkan kompleksitas jaringan tubuh secara utuh. Sebaliknya, uji *in vivo* menggambarkan fisiologi organisme secara menyeluruh dan menilai farmakokinetika obat, namun menimbulkan tantangan terkait relevansi spesies serta pertimbangan etis. Uji *ex vivo* hadir sebagai jembatan antara keduanya karena mampu mempertahankan arsitektur jaringan alami dan memberikan data translasional yang lebih mendekati kondisi biologis sebenarnya. Saat ini, praktik pra-klinik semakin banyak memanfaatkan model *in vitro* kompleks (*Complex In vitro Models/CIVMs*) dan hasil integratif untuk mengombinasikan berbagai metode tersebut demi meningkatkan relevansi translasional terhadap kondisi manusia (Wang, Hu, *et al.*, 2024).

Proses translasi data dari model eksperimental menuju penerapan klinis masih menghadapi berbagai tantangan yang cukup kompleks. Perbedaan spesies, lingkungan mikro yang terlalu sederhana, serta pola paparan obat yang statis sering kali tidak mampu merepresentasikan dinamika farmakologi manusia. Untuk mengatasi hal tersebut, penelitian terkini menyoroti pentingnya pemodelan farmakokinetik dan farmakodinamik dinamis, penentuan dosis–paparan yang lebih akurat, serta keselarasan desain penelitian pra-klinik dengan kondisi klinis sebenarnya. Meski kemajuan metodologis telah dicapai, proses translasi tetap belum sempurna (Kondic *et al.*, 2022). Oleh karena itu, diperlukan validasi berulang, kerangka ekstrapolasi lintas spesies, dan penggunaan biomarker yang kuat guna meningkatkan akurasi prediktif serta memastikan keberhasilan pengembangan obat pada tahap klinis.

Artikel ini disusun untuk memberikan pemahaman komprehensif mengenai kelebihan dan keterbatasan setiap model uji *in vitro*, *in vivo*, dan *ex vivo* dalam konteks evaluasi farmakologi. Review ini penting karena perbedaan karakteristik setiap metode dapat memengaruhi validitas, reproduisibilitas, serta relevansi hasil terhadap kondisi fisiologis manusia. Dengan menganalisis secara kritis keunggulan dan kekurangan masing-masing pendekatan, artikel ini bertujuan membantu peneliti menentukan model uji yang paling sesuai untuk tujuan penelitian obat tertentu. Urgensinya terletak pada kebutuhan harmonisasi antara hasil eksperimental dan prediksi respons klinis, sehingga dapat mempercepat proses pengembangan obat yang lebih aman dan efektif.

METODE

Metode penulisan review ini merupakan studi literatur sistematis yang dilakukan melalui pencarian berurutan pada basis data PMC, NCBI, Google Scholar, dan Elsevier untuk publikasi tahun 2020 hingga 2025 menggunakan kombinasi kata kunci seperti *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo*, *drug evaluation*, *pharmacology*, dan *preclinical testing*. Dari hasil awal diperoleh 15 artikel penelitian original dengan akses teks penuh; setelah penerapan kriteria seleksi, 11 artikel memenuhi inklusi dan dianalisis lebih lanjut. Kriteria inklusi meliputi penelitian original dengan data eksperimental *in vitro*, *in vivo*, atau *ex vivo* yang secara jelas berfokus pada evaluasi farmakologi obat atau sediaan, tersedia full text dalam bahasa Inggris atau Indonesia, dan dipublikasikan antara 2020 sampai 2025. Kriteria eksklusi mencakup review, meta analisis, laporan kasus, abstrak tanpa teks penuh, duplikasi publikasi, serta studi yang tidak relevan dengan tujuan evaluasi farmakologi atau tanpa deskripsi metode yang memadai. Dari artikel terpilih diekstrak informasi tentang jenis sampel, protokol metode, endpoint yang diukur, hasil utama, serta catatan penulis mengenai kelebihan dan keterbatasan model uji untuk memungkinkan sintesis kritis dan komparatif terhadap relevansi translasi ke konteks klinis.

HASIL DAN DISKUSI

Evaluasi farmakologi obat merupakan tahap krusial dalam memastikan keamanan, efektivitas, dan mekanisme kerja suatu senyawa sebelum diaplikasikan secara klinis. Dalam proses ini, model uji *in vitro*, *in vivo*, dan *ex vivo* menjadi fondasi utama untuk memperoleh data farmakodinamik maupun farmakokinetik yang representatif. Setiap pendekatan memiliki karakteristik tersendiri, mulai dari kesederhanaan analisis seluler hingga kompleksitas respon biologis organisme utuh. Namun, perbedaan kondisi fisiologis, keterbatasan translasi hasil, serta tantangan etika dan reproduisibilitas menjadi isu yang perlu dikritisi. Oleh karena itu, pemahaman mendalam mengenai kelebihan dan keterbatasan ketiga model uji ini menjadi penting untuk menilai validitas serta relevansi hasil penelitian dalam pengembangan obat modern.

Tabel 1. Hasil Review Artikel

N o	Penulis (Tahun)	Sampel Utama	Metode Uji (In vitro/In vivo/Ex vivo)	Implikasi Hasil	Kelebihan	Kekurangan
1	(Pasqualetti <i>et al.</i> , 2021)	Ekstrak botani kaya fenol dan fitokimia murni	<i>In vitro</i> (TEAC) dan <i>ex vivo</i> (pada membran eritrosit manusia untuk mengukur kemampuan mencegah peroksidasi lipid pada membran sel darah merah (eritrosit) yang diinduksi radiasi UV-B)	<i>In vitro</i> : menunjukkan bahwa kapasitas antioksidan tertinggi diperoleh pada Vineatrol, diikuti ekstrak biji anggur, sedangkan olive-water memiliki aktivitas terendah. <i>Ex vivo</i> : menunjukkan bahwa seluruh ekstrak tanaman mampu mengurangi peroksidasi lipid hingga 60–70%, dengan ekstrak biji anggur memiliki efek protektif paling kuat (IC50 paling kecil), sedangkan olive-water paling lemah.	<i>Ex vivo</i> lebih realistis menggambarkan kondisi biologis; dapat menguji efek protektif terhadap oksidasi membran	Korelasi rendah antara hasil <i>in vitro</i> dan <i>ex vivo</i> ; keterbatasan generalisasi pada sistem biologis kompleks
2	(Hasna <i>et al.</i> , 2023)	Kombinasi ekstrak tanaman obat Aljazair (fenugreek, bawang putih, bawang merah, jintan) dan <i>Bifidobacterium breve</i>	<i>In vitro</i> (uji dengan menilai antibakteri ekstrak tanaman, probiotik, dan kombinasinya terhadap <i>H. pylori</i>) dan <i>in vivo</i> (model tikus terinfeksi <i>H. pylori</i>)	<i>In vitro</i> : ekstrak etanol daun kelor mampu menurunkan kadar ion amonia secara signifikan pada sistem uji laboratorium. <i>In vivo</i> : pemberian ekstrak etanol daun kelor pada biota uji juga terbukti menurunkan kadar amonia dalam lingkungan	<i>In vivo</i> menunjukkan efek biologis langsung; dapat menilai aktivitas antiinflamasi dan proteksi mukosa	Variabilitas hasil antar hewan; sulit menentukan kontribusi tunggal antara probiotik dan tanaman

			hidupnya dan memperbaiki respons fisiologis organisme.		
3	(Sadozai <i>et al.</i> , 2022)	Gel topikal nanopartikel PLGA berisi ketokonazol dan AgNP terhadap <i>Candida albicans</i>	<i>In vitro</i> , <i>ex vivo</i> (kulit manusia), dan <i>in vivo</i> (tikus albino)	<i>In vitro</i> : ekstrak etanol daun kelor mampu menurunkan kadar ion amonia ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) pada medium uji laboratorium. <i>Ex vivo</i> : mengurangi akumulasi amonia pada jaringan atau sistem biologis yang diambil dari organisme uji, <i>In vivo</i> : penurunan kadar amonia di lingkungan tubuh biota serta perbaikan respons fisiologis yang sebelumnya menurun akibat paparan amonia.	Kombinasi tiga metode memberi validasi komprehensif; <i>ex vivo</i> mendekati kondisi kulit manusia Biaya tinggi dan kompleksitas formulasi; <i>ex vivo</i> terbatas pada jaringan non-vital
4	(Felix <i>et al.</i> , 2022)	α -Mangostin terhadap sel persister dan biofilm <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	<i>In vitro</i> (Disc diffusion, MIC/MBC, well diffusion, growth kinetics) dan <i>in vivo</i> (larva <i>Galleria mellonella</i>)	<i>In vitro</i> : α -mangostin membunuh MRSA persister secara cepat dengan merusak membran, menghambat pembentukan biofilm, dan menghancurkan biofilm matang. <i>In vivo</i> : pada larva <i>Galleria mellonella</i> , α -mangostin meningkatkan	<i>In vitro</i> mudah mengontrol variabel; <i>in vivo</i> menunjukkan efektivitas biologis dan keamanan Model larva tidak sepenuhnya merepresentasikan manusia; perlu uji toksisitas lanjutan

				tingkat kelangsungan hidup terhadap infeksi MRSA, menunjukkan efektivitas antibakteri secara biologis.		
5	(Fayez <i>et al.</i> , 2023)	Ekstrak daun zaitun (Olive leaf extract, OLE)	<i>In vitro</i> (Heat-induced hemolysis (stabilisasi membran RBC)) dan <i>in vivo</i> (Edema paw tikus akibat injeksi karagenan)	<i>In vitro</i> : Mengurangi pembengkakan kaki dan menurunkan kadar mediator inflamasi TNF, IL-1, COX-2, NO <i>In vivo</i> : Menstabilkan membran eritrosit, melindungi dari hemolisis	<i>In vitro</i> mudah menentukan mekanisme molekuler dan keamanan seluler; <i>in vivo</i> menilai efek fisiologis nyata pada hewan	<i>In vitro</i> tidak mencerminkan kondisi biologis kompleks; <i>in vivo</i> waktu lama dan variasi biologis tinggi
6	(Hussain <i>et al.</i> , 2022)	Ekstrak metanol <i>Momordica charantia</i>	<i>In vitro</i> (uji α -glukosidase, uji AChE, HPLC, FTIR) dan <i>in vivo</i> (tikus Wistar diabetes alloxan)	<i>In vitro</i> : menunjukkan aktivitas penghambatan enzim; mampu menurunkan aktivitas α -glukosidase dan AChE serta mengungkap kandungan flavonoid dan fenolat melalui HPLC dan FTIR. <i>In vivo</i> : menunjukkan efek antidiabetik langsung; mampu menurunkan FBG dan HbA1c serta memperbaiki struktur pankreas dan hati pada tikus diabetes.	<i>In vitro</i> memungkinkan identifikasi awal potensi enzimatik dan bioaktif; <i>in vivo</i> menilai efek terapeutik sistemik	<i>In vitro</i> tidak menunjukkan farmakokinetik aktual; <i>in vivo</i> terbatas oleh faktor spesies dan dosis
7	(Bi <i>et al.</i> , 2020)	Membran nanofiber PLA dan PLA/PVA/SA untuk	<i>In vitro</i> (uji sitokompatibilitas fibroblas L929: adhesi sel, proliferasi,	<i>In vitro</i> : menunjukkan biokompatibilitas tinggi; sel L929 mampu	<i>In vitro</i> memungkinkan evaluasi adhesi dan proliferasi sel;	<i>In vitro</i> tidak meniru kondisi luka sebenarnya; <i>in vivo</i> sulit

		penyembuhan luka	morfologi sel melalui SEM) dan <i>in vivo</i> (model luka full-thickness pada tikus Sprague Dawley dengan evaluasi penyembuhan luka, histologi, IHC, dan analisis ekspresi gen).	beradhesi, tumbuh, dan mempertahankan morfologi normal pada permukaan material.	<i>in vivo</i> menggambarkan efektivitas biologis terhadap regenerasi jaringan	mengontrol variabel biologis
8	(Merkel <i>et al.</i> , 2022)	Natrium tiosulfat (STS) terhadap mikrosfer CaHA	<i>In vitro</i> (Mengamati perubahan ukuran dan karakter fisik mikrosfer CaHA setelah paparan Natrium Thiosulfate di lingkungan terkontrol) dan <i>ex vivo</i> (Uji menggunakan jaringan manusia untuk melihat respon partikel dalam kondisi yang lebih mendekati jaringan klinis)	<i>In vitro</i> : menunjukkan bahwa Natrium Thiosulfate mampu mengurangi ukuran mikrosfer CaHA secara langsung tanpa faktor biologis lain. <i>ex vivo</i> : memperlihatkan bahwa terjadi perubahan ukuran tetapi tidak terjadi perubahan secara signifikan dalam jarak dispersi partikel, sehingga efek klinis diperkirakan terbatas karena tidak mempengaruhi respon jaringan secara sistemik.	<i>In vitro</i> : memungkinkan observasi langsung perubahan partikel <i>ex vivo</i> : mendekati kondisi jaringan manusia tanpa risiko etis	<i>In vitro</i> : tidak mempertimbangkan interaksi jaringan hidup <i>ex vivo</i> : tidak menggambarkan respons fisiologis penuh
9	(Lorenz <i>et al.</i> , 2023)	Electrospun gelatin-glucose (GEL-Glu) matrix dan kulit telinga babi	<i>In vitro</i> (membangun model biofilm dan mengevaluasi	<i>In vitro</i> : menunjukkan bahwa matriks gelatin-glukosa mampu	<i>In vitro</i> : menghasilkan data yang lebih konsisten	<i>In vitro</i> : kurang mencerminkan kompleksitas jaringan

		dengan luka bakar superfisial	kemampuan matriks gelatin-glukosa menghambat bakteri dalam kondisi terkontrol dan <i>ex vivo</i> (menggunakan kulit telinga babi yang dibuat luka bakar superfisial untuk menguji performa balutan pada struktur jaringan yang menyerupai luka manusia)	menghambat pembentukan biofilm bakteri dan memberikan hasil yang stabil antar pengulangan. <i>ex vivo</i> : membuktikan bahwa model dapat meniru kondisi luka kronis manusia dan memberikan gambaran lebih realistis	dan mudah dikontrol. <i>ex vivo</i> : menggunakan jaringan biologis nyata yang menyerupai kondisi luka manusia	<i>ex vivo</i> : sulit distandarisasi dan memiliki tantangan dalam sterilisasi serta penyimpanan
10	(Sahu et al., 2024)	Gel nanotransferosom berisi ekstrak metanol <i>Solanum xanthocarpum</i>	<i>In vitro</i> (uji pelepasan obat dari SXE-NTF melalui membran/dialysis bag untuk melihat profil dan mekanisme rilisnya) dan <i>ex vivo</i> (uji permeasi kulit dan dermatokinetik pada kulit tikus untuk menilai seberapa jauh, seberapa banyak, dan seberapa lama obat menembus serta tertahan di lapisan kulit.)	<i>In vitro</i> : formulasi SXE-NTF melepaskan obat sekitar 79% dan jauh lebih tinggi daripada suspensi SXE biasa ($\pm 19\%$) dengan pola pelepasan terkontrol. <i>Ex vivo</i> : gel SXE-NTF meningkatkan permeasi, penetrasi ke lapisan kulit yang lebih dalam, serta retensi SXE di epidermis dan dermis tikus secara signifikan dibanding gel SXE biasa.	<i>In vitro</i> memungkinkan optimasi cepat ukuran vesikel dan efisiensi penjerapan; <i>ex vivo</i> memberikan data penetrasi kulit yang lebih realistis	<i>In vitro</i> tidak menggambarkan permeasi biologis aktual; <i>ex vivo</i> memiliki variasi biologis tinggi dan keterbatasan masa hidup jaringan
11	(Hui et al., 2022)	Senyawa 3-indoleacetonitrile dari tanaman <i>Brassica</i>	<i>In vitro</i> (Sel 293T, Vero E6, Huh7 diinfeksi dengan VSV, HSV-1, atau SARS-CoV-2, lalu efek 3-indoleacetonitril terhadap replikasi virus dan viabilitas sel dinilai)	<i>In vitro</i> : 3-indoleacetonitrile menurunkan replikasi berbagai virus (VSV, HSV-1, dan SARS-CoV-2) di kultur sel tanpa toksisitas berarti, ditandai penurunan	<i>In vitro</i> cepat mengidentifikasi mekanisme molekuler dan efek sitotoksik; <i>in vivo</i> membuktikan efek antivirus sistemik yang realistis	<i>In vitro</i> tidak menilai efek imunologis kompleks; <i>in vivo</i> memiliki keterbatasan etis dan perbedaan fisiologi antar spesies

menggunakan CCK-8, plaque assay, western blot, imunofluoresensi, qPCR, dan reporter luciferase. dan *in vivo* (Tikus BALB/c diinfeksi intranasal dengan strain SARS-CoV-2 yang diadaptasi pada tikus, diberi 3-indoleacetonitril e lewat injeksi vena ekor, kemudian dipantau berat badan, mortalitas, beban virus paru, dan kerusakan jaringan paru melalui histopatologi dan imunofluoresensi).

sinyal GFP dan titer virus. *In vivo*: 3-indoleacetonitril yang diberikan intravena pada mencit terinfeksi SARS-CoV-2 mengurangi penurunan berat badan, menurunkan viral load paru, memperbaiki gambaran histopatologi paru, dan meningkatkan survival dibanding kontrol.

Berdasarkan penelitian Pasqualetti *et al.* (2021), penggunaan pendekatan *in vitro* dan *ex vivo* dalam mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak botani menunjukkan korelasi yang menarik namun tidak selalu konsisten. Uji *in vitro* dengan metode TEAC memberikan gambaran kuantitatif terhadap kemampuan penangkapan radikal bebas, sementara model *ex vivo* pada membran eritrosit manusia lebih realistis dalam mensimulasikan stres oksidatif biologis. Meskipun demikian, penelitian ini menegaskan adanya perbedaan hasil antara kedua pendekatan tersebut karena kompleksitas sistem biologis yang tidak dapat sepenuhnya direpresentasikan oleh model *in vitro*. Kekurangan utama pendekatan ini terletak pada keterbatasan generalisasi hasil laboratorium terhadap kondisi fisiologis manusia yang sebenarnya, meskipun kelebihanannya adalah kemudahan kontrol variabel dan efisiensi waktu penelitian.

Sebaliknya, penelitian Hasna *et al.* (2023) menunjukkan bahwa penggunaan kombinasi metode *in vitro* dan *in vivo* lebih mampu menjelaskan efek biologis nyata dari intervensi kompleks, seperti kombinasi ekstrak tanaman obat dan probiotik terhadap infeksi *Helicobacter pylori*. Model *in vivo* pada tikus memperlihatkan penurunan signifikan kolonisasi bakteri dan inflamasi lambung, yang tidak dapat ditangkap secara penuh oleh uji *in vitro*. Namun, pendekatan *in vivo* memiliki tantangan metodologis, termasuk variabilitas antar hewan dan kesulitan menentukan kontribusi spesifik masing-masing komponen dalam campuran bahan aktif. Bila dibandingkan dengan studi Pasqualetti *et al.* (2021), penelitian Hasna *et al.* (2023) menunjukkan tingkat translasi biologis yang lebih tinggi, namun dengan kompromi pada kontrol eksperimental dan reproduktibilitas data.

Adapun penelitian Sadozai *et al.* (2022) dan Felix *et al.* (2022) memperluas spektrum metodologi dengan menggabungkan *in vitro*, *ex vivo*, dan *in vivo* untuk mengevaluasi efektivitas antijamur dan antibakteri. Studi Sadozai *et al.* (2023) menunjukkan bahwa kombinasi tiga pendekatan tersebut memberikan validasi komprehensif terhadap efektivitas gel nanopartikel PLGA berisi ketokonazol dan AgNP terhadap *Candida albicans*, meskipun memerlukan biaya tinggi dan menghadapi keterbatasan jaringan *ex vivo* yang non-vital. Sementara itu, penelitian Felix *et al.* (2022) menggunakan model *in vivo* berbasis larva *Galleria mellonella*, yang menawarkan alternatif etis dan efisien untuk menilai toksisitas awal, namun masih kurang representatif terhadap fisiologi manusia. Perbandingan kedua penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi multi-metode memberikan bukti yang lebih

kuat dan validasi menyeluruh terhadap aktivitas biologis suatu formulasi, meskipun konsekuensinya adalah meningkatnya kompleksitas desain, biaya penelitian, dan keterbatasan generalisasi lintas spesies.

Berdasarkan penelitian Fayez *et al.* (2023), kombinasi metode *in vitro* dan *in vivo* memberikan gambaran komprehensif terhadap aktivitas antiinflamasi ekstrak daun zaitun (*Olive leaf extract*, *OLE*). Pendekatan *in vitro* memudahkan peneliti dalam menilai mekanisme molekuler, seperti penurunan ekspresi TNF, IL-1, COX-2, dan NO, serta keamanan terhadap sel. Sementara itu, uji *in vivo* memperlihatkan kemampuan ekstrak dalam menstabilkan membran eritrosit dan lisosom pada hewan uji. Namun, pendekatan ini tidak terlepas dari keterbatasan. Model *in vitro* kurang mampu meniru kompleksitas fisiologi organisme hidup, sedangkan *in vivo* memerlukan waktu lebih lama serta berpotensi menghasilkan variasi biologis yang tinggi. Meski demikian, penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi kedua pendekatan mampu menjembatani kesenjangan antara data molekuler dan respons biologis nyata, sehingga memberikan dasar kuat bagi pengembangan agen antiinflamasi alami.

Hasil berbeda ditunjukkan oleh Hussain *et al.* (2022) yang meneliti ekstrak metanol *Momordica charantia* menggunakan rancangan *in vitro* dan *in vivo* untuk mengevaluasi aktivitas antidiabetes dan antikolinesterase. Uji *in vitro* efektif mengidentifikasi kemampuan ekstrak dalam menghambat enzim α -glukosidase dan asetilkolinesterase, yang relevan terhadap mekanisme pengendalian glukosa dan fungsi kognitif. Namun, hasil *in vivo* pada tikus diabetes lebih menonjol karena menunjukkan perbaikan kadar glukosa, HbA1c, dan insulin secara sistemik. Bila dibandingkan dengan studi Fayez *et al.* (2023), penelitian Hussain *et al.* (2022) menunjukkan tingkat validasi biologis yang lebih kuat terhadap efek terapeutik, meskipun sama-sama menghadapi kendala dalam penerjemahan data antarspesies dan perbedaan farmakokinetik antara manusia dan hewan uji. Dengan demikian, pendekatan ganda tetap menjadi pilihan ideal untuk menilai aktivitas farmakologis, asalkan interpretasi hasil dilakukan dengan mempertimbangkan keterbatasan translasi biologisnya.

Sementara itu, penelitian Bi *et al.* (2020) dan Merkel *et al.* (2022) menawarkan variasi metodologis yang menarik dengan kombinasi *in vitro*–*in vivo* serta *in vitro*–*ex vivo*. Bi *et al.* membuktikan bahwa membran nanofiber PLA dan PLA/PVA/SA efektif mempercepat regenerasi jaringan dan angiogenesis melalui peningkatan proliferasi fibroblas. Namun, uji *in vitro* mereka tidak sepenuhnya mencerminkan kondisi luka kompleks yang melibatkan interaksi jaringan dan respon imun. Di sisi lain, Merkel *et al.* (2022) menggunakan metode *in vitro* dan *ex vivo* untuk menilai efek natrium tiosulfat terhadap mikrosfer CaHA, dan menemukan bahwa meskipun terdapat perubahan morfologi partikel, dampak klinisnya terbatas. Jika dibandingkan, pendekatan *ex vivo* dalam penelitian Merkel *et al.* (2022) menawarkan kedekatan fisiologis dengan jaringan manusia yang lebih tinggi dibanding uji *in vitro* murni pada penelitian Bi *et al.* (2020), namun tetap tidak mampu menunjukkan dinamika biologis dan penyembuhan aktual sebagaimana terlihat dalam model *in vivo*. Hal ini menunjukkan bahwa setiap kombinasi metode memiliki kekuatan dan kelemahan yang saling melengkapi, sehingga pemilihan rancangan eksperimental sebaiknya disesuaikan dengan tujuan biologis yang ingin dicapai.

Berdasarkan penelitian Lorenz *et al.* (2023), pendekatan gabungan antara uji *in vitro* dan *ex vivo* digunakan untuk mengevaluasi efektivitas matriks gelatin–glukosa (GEL–Glu) dalam penyembuhan luka bakar superfisial. Model *in vitro* yang digunakan pada studi tersebut memberikan data yang konsisten dan dapat dikontrol dengan baik, sehingga sangat bermanfaat dalam menilai aktivitas antibakteri serta pembentukan biofilm. Namun, keterbatasannya terletak pada ketidakmampuannya meniru kompleksitas jaringan hidup secara utuh. Sebaliknya, model *ex vivo* menggunakan jaringan kulit babi yang lebih menyerupai kondisi biologis manusia, sehingga menghasilkan data yang lebih relevan terhadap situasi klinis nyata. Tantangannya adalah kesulitan dalam menjaga sterilitas jaringan dan keterbatasan daya tahannya, yang dapat memengaruhi validitas hasil. Penelitian ini menegaskan bahwa kombinasi kedua pendekatan tersebut mampu memberikan gambaran lebih utuh mengenai efektivitas balutan luka berbasis biomaterial.

Penelitian Sahu *et al.* (2024) juga memanfaatkan metode *in vitro* dan *ex vivo* dalam mengembangkan gel nanotransferosom yang mengandung ekstrak metanol *Solanum xanthocarpum* untuk terapi psoriasis. Uji *in vitro* digunakan untuk mengoptimalkan ukuran vesikel serta efisiensi penjerapan bahan aktif, sedangkan model *ex vivo* memberikan informasi penting mengenai tingkat penetrasi dan retensi kulit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi dua metode ini efektif dalam memvalidasi performa gel sebelum tahap uji klinis. Dibandingkan dengan studi Lorenz *et al.* (2023), penelitian Sahu *et al.* (2024) menonjol karena berhasil menampilkan manfaat farmasetik formulasi berbasis nanopartikel terhadap jaringan kulit hidup, bukan hanya sekadar aktivitas antibakteri. Namun, keduanya menghadapi tantangan serupa, yaitu variasi biologis tinggi dan keterbatasan masa hidup jaringan *ex vivo*, yang dapat membatasi konsistensi hasil dan replikasi studi.

Sementara itu, Hui *et al.* (2022) menggunakan kombinasi *in vitro* dan *in vivo* untuk menilai aktivitas antivirus senyawa 3-indoleacetonitrile dari tanaman *Brassica*. Melalui pendekatan *in vitro*, mekanisme molekuler dan sitotoksitas dapat diidentifikasi secara cepat, terutama dalam pengaktifan jalur interferon dan peningkatan ekspresi protein MAVS. Model *in vivo* kemudian memperkuat temuan tersebut dengan menunjukkan efek

antivirus yang nyata terhadap infeksi SARS-CoV-2, HSV-1, dan VSV pada hewan uji. Jika dibandingkan dengan penelitian Lorenz *et al.* (2023) dan Sahu *et al.* (2024), pendekatan Hui *et al.* (2022) lebih unggul dalam mengonfirmasi efek biologis sistemik dan imunologis secara menyeluruh, meskipun memiliki keterbatasan etis serta perbedaan fisiologi antar spesies. Kombinasi metode yang mencakup respon imun nyata menjadikan penelitian ini lebih representatif terhadap kondisi fisiologis manusia, tetapi juga lebih kompleks dan menuntut waktu serta sumber daya yang lebih besar dibanding model *ex vivo*.

KESIMPULAN

Secara keseluruhan, artikel ini menegaskan bahwa tidak ada satu metode uji farmakologi yang bersifat universal atau sepenuhnya unggul, melainkan setiap pendekatan baik *in vitro*, *ex vivo*, maupun *in vivo* memiliki kelebihan dan keterbatasannya masing-masing yang saling melengkapi. Model *in vitro* unggul dalam hal efisiensi, kontrol variabel, dan kemampuan untuk mempelajari mekanisme molekuler, tetapi kurang representatif terhadap kompleksitas biologis. Sebaliknya, *ex vivo* memberikan gambaran yang lebih realistis terhadap kondisi jaringan manusia, meski menghadapi tantangan terkait standarisasi dan daya tahan jaringan. Adapun *in vivo* tetap menjadi pendekatan paling komprehensif untuk mengevaluasi efek biologis sistemik, namun memerlukan waktu, biaya, dan pertimbangan etis yang lebih besar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada apt. Suci Wulan Sari, M.Farm., selaku dosen pembimbing, atas bimbingan, arahan, dan masukan yang diberikan selama proses penyusunan artikel ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penulisan artikel. Seluruh proses penulisan dilakukan secara independen tanpa pengaruh pihak mana pun.

DAFTAR PUSTAKA

- Bi, H., Feng, T., Li, B. & Han, Y. 2020. *In vitro* and *In vivo* Comparison Study of Electrospun PLA and PLA/PVA/SA Fiber Membranes for Wound Healing. *Polymers*. 12(4):839.
- Fayez, N., Khalil, W., Abdel-Sattar, E. & Abdel-Fattah, A.F.M. 2023. *In vitro* and *in vivo* assessment of the anti-inflammatory activity of olive leaf extract in rats. *Inflammopharmacology*. 31(3):1529.
- Felix, L.O., Mishra, B., Khader, R., Ganesan, N. & Mylonakis, E. 2022. *In vitro* and *In vivo* Bactericidal and Antibiofilm Efficacy of Alpha Mangostin Against Staphylococcus aureus Persister Cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 12:898794.
- Hasna, B., Houari, H., Koula, D., Marina, S., Emilia, U. & Assia, B. 2023. *In vitro* and *In vivo* Study of Combined Effect of Some Algerian Medicinal Plants and Probiotics against Helicobacter pylori. *Microorganisms*. 11(5):1242.
- Hui, X., Yu, X., Huang, K., Xu, T., Cao, L., ... Jin, M. 2022. *In vitro* and *in vivo* effects of 3-indoleacetonitrile—A potential new broad-spectrum therapeutic agent for SARS-CoV-2 infection. *Antiviral Research*. 209:105465.
- Hussain, F., Hafeez, J., Khalifa, A.S., Naeem, M., Ali, T. & Eed, E.M. 2022. *In vitro* and *in vivo* study of inhibitory potentials of α -glucosidase and acetylcholinesterase and biochemical profiling of M. charantia in alloxan-induced diabetic rat models. *American Journal of Translational Research*. 14(6):3824. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9274573/> Date of access: 03 Nov. 2025.
- Kondic, A., Bottino, D., Harrold, J., Kearns, J.D., Musante, C.J., ... Schoeberl, B. 2022. Navigating Between Right, Wrong, and Relevant: The Use of Mathematical Modeling in Preclinical Decision Making. *Frontiers in Pharmacology*. 13:860881.
- Lorenz, K., Preem, L., Sagor, K., Putrinš, M., Tenson, T. & Kogermann, K. 2023. Development of *In vitro* and *Ex vivo* Biofilm Models for the Assessment of Antibacterial Fibrous Electrospun Wound Dressings. *Molecular Pharmaceutics*. 20(2):1230.

- Merkel, E.A., Worley, B., Christensen, R.E., Harikumar, V., Lu, K.Q., ... Alam, M. 2022. *In vitro* and *Ex vivo* Investigation of Intralesional Sodium Thiosulfate as a Reversal Agent for Calcium Hydroxylapatite Soft Tissue Filler. *The Journal of investigative dermatology*. 142(11):3125.
- Pasqualetti, V., Locato, V., Fanali, C., Mulinacci, N., Cimini, S., ... De Gara, L. 2021. Comparison between *in vitro* chemical and *ex vivo* biological assays to evaluate antioxidant capacity of botanical extracts. *Antioxidants*. 10(7):1136.
- Sadozai, S.K., Khan, S.A., Baseer, A., Ullah, R., Zeb, A. & Schneider, M. 2022. *In vitro*, *Ex vivo*, and *In vivo* Evaluation of Nanoparticle-Based Topical Formulation Against *Candida albicans* Infection. *Frontiers in Pharmacology*. 13:909851.
- Sahu, N., Alam, P., Ali, A., Kumar, N., Tyagi, R., ... Saxena, S. 2024. Optimization, *In vitro* and *Ex vivo* Assessment of Nanotransferosome Gels Infused with a Methanolic Extract of *Solanum xanthocarpum* for the Topical Treatment of Psoriasis. *Gels*. 10(2):119.
- Soufizadeh, P., Mansouri, V. & Ahmadbeigi, N. 2024. A review of animal models utilized in preclinical studies of approved gene therapy products: trends and insights. *Laboratory Animal Research*. 40(1):17.
- Wang, L., Hu, D., Xu, J., Hu, J. & Wang, Y. 2024. Complex *in vitro* model: A transformative model in drug development and precision medicine. *Clinical and Translational Science*. 17(2):e13695.
- Wang, X., Lu, J., Huang, Y., Liu, X., Fang, G., ... Guo, Z. 2024. Editorial: Emerging bioanalytical techniques and therapies for human disease models. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 12:1453813.