



Indonesian Dental Association

Journal of Indonesian Dental Association

<http://jurnal.pdgi.or.id/index.php/jida>
ISSN: 2621-6183 (Print); ISSN: 2621-6175 (Online)



Research Article

Cytotoxicity Effect of *Borassus flabellifer* L. Seed Coat on Fibroblast

Risha Nadira Tyatana¹, Janti Sudiono^{2§}

¹ Undergraduate Student, Faculty of Dentistry, Trisakti University, Indonesia

² Department of Oral Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Trisakti University, Indonesia

Received date: May 20, 2021. **Accepted date:** August 30, 2021. **Published date:** October 31, 2021.

KEYWORDS

Borassus flabellifer L. (lontar)
seed coat extract;
cytotoxicity;
fibroblast;
MTT

ABSTRACT

Introduction: Medicinal plants or herbal medicine are increasingly being developed and widely used by the community. Herbal medicine can be used as an alternative for the prevention and treatment of chronic, degenerative and cancer diseases. *B. flabellifer* L. is one of the palm tree which grow at tropical area such as Indonesia with popular name as 'lontar' or 'siwalan'. *B. flabellifer* L. (lontar) seed coat was reported to have an antimycotic and antiproliferative activity against neoplastic cells. The use of alternative treatment is considered safe if its toxicity to normal cell is low. However there has been no research on cytotoxicity of *B. flabellifer* L. seed coat towards a normal cell. The normal cell that can be used for cytotoxicity tests were fibroblast. **Objective:** The aim of this study was to determine the cytotoxicity effect of *B. flabellifer* L. seed coat extract towards fibroblast. **Method:** The extract of *B. flabellifer* L. seed coat was done by maceration technique using 70% ethanol and then diluted to 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, and 1.56% concentrations. The MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] method was performed to evaluate fibroblast viability. The fibroblast were tested using various concentrations of *B. flabellifer* L. seed coat extract and the control groups consisting positive and negative control that were observed for 24 and 48 hours. The absorbance value was measured by microplate reader at 570 nm. **Results:** At 24 hours observation, the concentration of 1.56% was classified as mild toxic, the concentrations of 3.125%, 6.25%, 12.5% and 25% were classified as moderate, and the concentration of 50% as severe toxic. At 48 hours, the concentrations of 1.56%, 3.125%, 6.25% and 12.5% were classified as moderate while the concentrations of 25% and 50% as severe toxic. **Conclusion:** *B. flabellifer* L. seed coat extract has cytotoxicity effect towards fibroblast started from concentration of 1.56%.

[§] Corresponding Author

E-mail address: jantish@trisakti.ac.id (Sudiono J)

DOI: [10.32793/jida.v4i2.681](https://doi.org/10.32793/jida.v4i2.681)

Copyright: ©2021 Tyatana RN, Sudiono J. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium provided the original author and sources are credited.

KATA KUNCI

ekstrak kulit dalam buah lontar;
sitotoksitas;
fibroblas;
MTT

ABSTRAK

Pendahuluan: Tanaman obat atau tanaman herbal semakin berkembang dan marak digunakan oleh masyarakat. Obat herbal dapat dijadikan sebagai alternative untuk pencegahan dan pengobatan penyakit kronis, degeneratif maupun kanker. Kulit bagian dalam buah lontar (*Borassus flabellifer* L.) diketahui memiliki aktivitas antimikotik dan antiproliferatif terhadap sel tumor. Penggunaan obat alternative dianggap aman apabila toksisitasnya terhadap sel normal rendah. Hingga saat ini belum ada penelitian uji sitotoksitas ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. terhadap sel normal. Sel normal yang dapat digunakan sebagai uji sitotoksitas adalah fibroblas. **Tujuan:** Untuk mengetahui efek sitotoksitas ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. terhadap fibroblas. **Metode:** Pembuatan ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% selanjutnya dilakukan pengenceran sehingga didapat ekstrak dalam konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56%. Uji sitotoksitas dilakukan dengan metode Microtetrazolium [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (MTT) untuk melihat viabilitas fibroblast menggunakan berbagai variasi konsentrasi ekstrak kulit dalam buah lontar, kontrol positif dan kontrol negatif dengan pengamatan selama 24 dan 48 jam. Pembacaan nilai absorbansi dilakukan menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 570 nm. **Hasil:** Pada pengamatan 24 jam, konsentrasi 1,56% ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. diklasifikasikan sebagai toksik ringan terhadap fibroblas, konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5% dan 25% diklasifikasikan sebagai toksik sedang, dan konsentrasi 50% diklasifikasikan sebagai toksik berat. Pada pengamatan 48 jam, konsentrasi 1,56%, 3,125%, 6,25%, dan 12,5% diklasifikasikan sebagai toksik sedang, konsentrasi 25% dan 50% sebagai toksik berat terhadap fibroblas. **Kesimpulan:** Terdapat sifat toksik dari berbagai konsentrasi ekstrak kulit dalam buah lontar (*B. flabellifer* L.) terhadap fibroblast mulai dari konsentrasi 1,56%.

PENDAHULUAN

Tanaman obat di Indonesia sudah dilestarikan turun-temurun sebagai pengobatan tradisional.¹ Tanaman obat dikenal juga sebagai tanaman herbal yang secara umum merupakan semua jenis tanaman yang mengandung senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis atau bioaktivitas dan direkomendasikan untuk pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama penyakit kronis, degeneratif dan kanker.^{2,3} Di Indonesia banyak tersebar berbagai jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai alternative obat dalam bidang kesehatan. Kurang lebih 40.000 jenis tumbuhan obat tumbuh di dunia dengan 30.000 jenis tumbuhan terdapat di Indonesia, mewakili 90% tanaman obat di wilayah Asia dengan kurang lebih 25% didapati khasiat herbal atau tanaman obat.⁴ Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal adalah lontar. *B. flabellifer* L. (lontar) merupakan salah satu jenis palma yang tumbuh di wilayah tropis seperti Indonesia.⁵ Buah lontar biasanya dimanfaatkan sebagai hidangan pencuci mulut. Namun, umumnya kulitnya hanya menjadi limbah saja.

Pada penelitian sebelumnya kulit dalam buah lontar diketahui memiliki aktivitas antibakteri, antifungi serta aktivitas anti proliferasi terhadap tumor dan berpotensi sebagai antikanker dan antioksidan.^{6,7,8} Uji sitotoksitas

merupakan tahap awal pengujian biokompatibilitas menggunakan kultur sel mamalia untuk mengetahui apakah suatu bahan dapat digunakan oleh tubuh tanpa menyebabkan toksisitas, injuri ataupun reaksi imun.⁹ Hingga saat ini belum ada penelitian mengenai uji sitotoksitas kulit dalam *B. flabellifer* L. terhadap sel normal yaitu fibroblas. Oleh karena itu, tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk menentukan efek sitotoksitas ekstrak kulit dalam buah *B. flabellifer* L. terhadap fibroblast dengan menggunakan konsentrasi ekstrak dan periode waktu pengamatan yang berbeda. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi serial mulai dari 50% sampai 1,56% dengan pengamatan 24 dan 48 jam.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan *post test only control group design*. Uji determinasi tanaman dilaksanakan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Pembuatan ekstrak dan uji fitokimia secara kualitatif dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas YARSI. Uji sitotoksitas terhadap fibroblast dilaksanakan di BioCORE Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti. Sampel penelitian menggunakan fibroblas yang diperoleh dari isolasi preputium orang dewasa yang tersedia di BioCORE Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.

Alat yang digunakan dalam penelitian terdiri dari alat ekstraksi yaitu tabung erlenmeyer, *beaker glass*, timbangan, mesin pengaduk, saringan, corong pisah, dan *rotary vacuum evaporator*. Alat uji sitotoksitas fibroblas HDF-*line* terdiri dari pipet mikro, *microplate reader*, *centrifuge*, *biosafety cabinet*, *inverted microscope*, inkubator CO₂, dan *microplate 96 well*. Bahan yang digunakan adalah ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L, medium kultur DMEM, etanol 70%, H₂O 1%, reagen MTT, fibroblas HDF-*line*, PBS, FBS, antibiotik (*Penicilin-Streptomisin*) dan antimikotik (Amfoterisin B) 1%.

Pembuatan Ekstrak

B. flabellifer L. yang matang dicuci menggunakan air mengalir kemudian dipisahkan antara kulit bagian luar dan dalam. Kulit bagian dalam *B. flabellifer* L. selanjutnya dikeringkan di suhu ruang hingga mengering dan selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.

Kulit bagian dalam *B. flabellifer* L. yang sudah mengering dihaluskan menggunakan *blender*, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer melalui corong pisah dan direndam menggunakan etanol 70%. Tabung Erlenmeyer selanjutnya diletakkan di atas *digital shaker* untuk mengaduk rendaman kulit bagian dalam *B. flabellifer* L. dengan kecepatan 200 rpm selama 6 jam sehingga didapat hasil maserasi. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring dan diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. pekat yang kemudian disimpan dalam lemari pendingin. Pengenceran ekstrak selanjutnya dilakukan dengan serial dilusi sehingga akan didapat larutan ekstrak dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,56%.

Uji Fitokimia

Fenolik

Sampel yang telah dipanaskan dengan air selanjutnya ditambahkan 4 tetes pereaksi feriklorida (FeCl₃) 5%. Hasil positif dari senyawa fenolik ditandai dengan terbentuknya warna hijau hingga biru kehitaman.

Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan menggunakan 3 pereaksi, pereaksi pertama adalah asam klorida 37%. Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi selanjutnya ditambahkan 5 tetes asam klorida 37% dan serbuk magnesium sebanyak 0,1 mg lalu dikocok kuat. Hasil positif flavonoid ditandai dengan perubahan larutan

menjadi berwarna kuning, jingga atau merah. Pereaksi kedua, sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi H₂SO₄ 2N sebanyak 4 tetes. Hasil positif flavonoid ditandai dengan perubahan larutan menjadi berwarna kuning, jingga atau merah. Pereaksi ketiga menggunakan NaOH 10%, sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan NaOH 10% sebanyak 4 tetes. Hasil positif flavonoid ditandai dengan perubahan larutan menjadi berwarna kuning, jingga atau merah

Steroid

Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi *Lieberman-Burchard* lalu dipipet dan disaring. Hasil positif steroid ditandai dengan perubahan larutan menjadi warna biru atau hijau.

Triterpenoid

Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi *Lieberman-Burchard* selanjutnya dipipet kemudian disaring. Hasil positif triterpenoid ditandai dengan perubahan larutan menjadi warna merah ungu.

Saponin

Sampel ditambahkan air lalu dipanaskan selama 15 menit, selanjutnya dikocok kuat selama 30 detik. Hasil positif dari saponin ditandai dengan terbentuknya busa stabil selama 5 menit setinggi 1 cm dan tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N.

Tanin

Sampel yang telah dipanaskan dengan air selanjutnya ditambahkan dengan 4 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif dari senyawa tanin ditandai dengan perubahan larutan menjadi biru kehitaman.

Alkaloid

Ekstrak kental dilarutkan menggunakan larutan ammonia 10% lalu ditambahkan kloroform dan selanjutnya lapisan kloroform bagian bawah dipipet dan disaring. Filtrat ditambahkan dengan larutan asam klorida 2N lalu dikocok kuat sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah dimasukkan dalam tabung lalu ditambahkan pereaksi *Hager*, hasil positif dari senyawa alkaloid ditandai oleh terbentuknya endapan berwarna jingga. Lapisan atas yaitu lapisan HCl dipipet dan dipisahkan menjadi dua bagian, bagian pertama ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi *Wagner* dan bagian kedua ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi *Dragendorff*

Hasil positif senyawa alkaloid ditandai oleh terbentuknya endapan coklat kemerahan pada bagian pereaksi Wagner dan terbentuknya endapan jingga cokelat atau berubah keruh pada bagian pereaksi *Dragendorff*.

Subkultur Sel

Medium kultur dibuat dengan Dulbecco's *modified eagle medium* (DMEM) yang ditambahkan dengan *fetal bovine serum* (FBS) 20% dan 1% antibiotik (*penicillin-streptomycin*) serta antimikotik (Amfoterisin B) kemudian disimpan dalam inkubator CO₂ 5%. Kultur sel yang sudah diinkubasi sebelumnya dipisahkan dari medium kultur (DMEM) yang berada dalam *petri dish* menggunakan pipet mikro. Fibroblas kemudian dicuci menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) selanjutnya ditambahkan tripsin-etilen diamin tetra asetat (EDTA) lalu dimasukkan dalam inkubator CO₂ 5% selama 5 menit. Fibroblas dan tripsin-EDTA dalam *petri dish* kemudian dipindahkan ke dalam tube lalu ditambah dengan medium kultur dan selanjutnya dilakukan sentrifugasi. Setelah disentrifugasi supernatan dibuang sehingga tersisa endapan sel yang berada di dasar *tube*, kemudian di resuspensi dengan medium komplit. Sel diamati dan dihitung menggunakan hemositometer di bawah *inverted microscope*. Suspensi sel selanjutnya dimasukkan ke dalam 96 sumuran sebanyak 100 µL kemudian plate diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂ 5%.

Uji Viabilitas Sel

Metode yang sering digunakan untuk uji sitotoksitas adalah [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] MTT yang merupakan metode kolorimetrik kuantitatif.^{10,11} Metode MTT mengukur viabilitas sel dengan melihat perubahan formazan yang berwarna kuning menjadi biru atau ungu.^{12,13} Sel yang sudah didistribusikan kedalam *plate 96 well* ditambahkan larutan uji yaitu ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. dalam berbagai konsentrasi, kontrol positif (H₂O₂ 3%) dan kontrol negative (medium kultur tanpa ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L) dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali dari masing-masing kelompok kontrol perlakuan. *Plate 96 well* kemudian diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam dengan inkubator CO₂ 5%. Pada akhir inkubasi media sel dibuang kemudian dicuci menggunakan PBS, lalu ditambahkan -(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide microtetrazolium (MTT) sebanyak 50 µL/well. Plate kemudian diinkubasi selama ± 4 jam lalu ditambahkan reagen penghenti reaksi *Acidified-isopropanol* untuk menghentikan aktivitas dari MTT. Nilai absorbansi selanjutnya dibaca menggunakan microplate reader dengan panjang gelombang 570 nm lalu viabilitas sel dihitung menggunakan rumus:¹⁴

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{\text{OD sampel}}{\text{OD kontrol negatif}} \times 100\%$$

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan uji normalitas data (*Saphiro-Wilk*), analisis varian satuarah (ANOVA) lalu dilanjutkan dengan uji Post Hoc *Least Significant Differences* (LSD).

HASIL PENELITIAN

Uji fitokimia ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L dengan metode kualitatif menunjukkan senyawa aktif yang terdapat pada Tabel 1. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan selama 24 jam dan 48 jam dari berbagai variasi konsentrasi ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. terhadap viabilitas fibroblast yang diukur dari nilai optical density atau absorbansi menggunakan microplate reader dengan panjang gelombang 570 nm. Pada pengamatan 24 jam, pada konsentrasi 6,25%, 3,125% dan 1,56% ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L rata-rata persentase viabilitas fibroblas di atas 50%. Sebaliknya pada pengamatan 48 jam, terjadi penurunan viabilitas fibroblas dengan rata-rata jumlah kematian sel di atas 50%, mengikuti peningkatan konsentrasi. Berdasarkan hasil penelitian, diperkirakan nilai IC₅₀ ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L pengamatan 48 jam meskipun pada konsentrasi rendah (6,25%, 3,125% dan 1,56%) adalah tinggi, mengikuti peningkatan konsentrasi. Hasil penelitian uji viabilitas ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. dapat dilihat pada Tabel 2, 3, dan Gambar 1.

PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L mengandung senyawa fenolik, flavonoid, triterpenoid, tanin dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan fenolik memiliki aktivitas biologis yaitu sebagai antioksidan, antiinflamasi dan lain-lain.^{15,16} Senyawa triterpenoid memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri dan antifungi.¹⁷ Tanin memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, astringen, antibakteri.¹⁸

Suatu material atau bahan dikatakan biokompatibel apabila tidak memicu reaksi alergi, iritasi dan respon toksik.¹⁹ Uji sitotoksitas terhadap fibroblas-line pada penelitian ini menggunakan ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% dengan melihat jumlah viabilitas fibroblasline menggunakan metode MTT yang dilihat dari perubahan warna formazan setelah terpapar ekstrak kulit dalam buah lontar dalam berbagai konsentrasi selama 24 dan 48 jam.

Tabel 1. Uji fitokimia ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L.

No	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
1.	Fenolik	Pereaksi FeCl ₃ 5%	+
2.	Flavonoid	a. Pereaksi HCL pekat + Mg b. Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N c. Pereaksi NaOH 10%	+
3.	Steroid	Pereaksi <i>Lieberman-Burchard</i>	-
4.	Triterpenoid	Pereaksi <i>Lieberman-Burchard</i>	+
5.	Saponin	Pereaksi HCl + H ₂ O	-
6.	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	+
7.	Alkaloid	a. Pereaksi Hager b. Pereaksi Wagner c. Pereaksi Dragendorff	+

Tabel 2. Nilai rata-rata *optical density*, standar deviasi dan persentase sel hidup pengamatan 24 jam

Bahan Uji	Nilai <i>Optical Density</i>		
	N	X ± SD*	%
Konsentrasi 50%	3	0,250 ± 0,003	27
Konsentrasi 25%	3	0,327 ± 0,021	36
Konsentrasi 12,5%	3	0,414 ± 0,022	46
Konsentrasi 6,25%	3	0,454 ± 0,021	50
Konsentrasi 3,125%	3	0,523 ± 0,001	58
Konsentrasi 1,56%	3	0,584 ± 0,012	65
Kontrol Positif	3	0,105 ± 0,010	11,75
Kontrol Negatif	3	0,895 ± 0,019	100

Tabel 3. Nilai rata-rata *optical density*, standar deviasi dan persentase sel hidup pengamatan 48 jam

Bahan Uji	Nilai <i>Optical Density</i>		
	N	X ± SD*	%
Konsentrasi 50%	3	0,200 ± 0,020	17,6
Konsentrasi 25%	3	0,232 ± 0,004	23,4
Konsentrasi 12,5%	3	0,305 ± 0,009	30
Konsentrasi 6,25%	3	0,326 ± 0,005	32,5
Konsentrasi 3,125%	3	0,419 ± 0,006	41
Konsentrasi 1,56%	3	0,477 ± 0,014	47
Kontrol Positif	3	0,071 ± 0,011	7,1
Kontrol Negatif	3	0,992 ± 0,006	100

Keterangan:

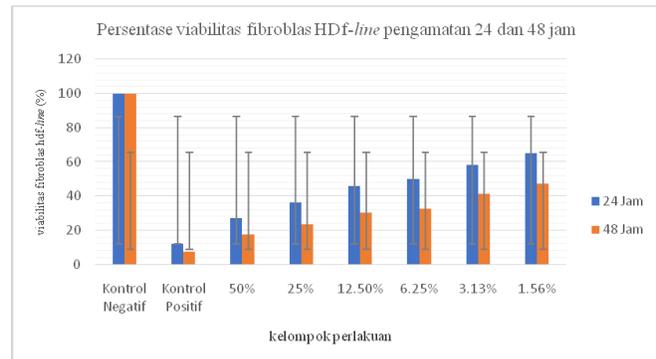
X : Rata-rata nilai *Optical Density*

SD : Standar Deviasi

% : Rata-rata persentase sel hidup

N : Jumlah pengulangan

* : Hasil rata-rata 3 kali pengukuran

**Gambar 1.** Persentase Viabilitas Fibroblas HDF-line Pengamatan 24 dan 48 jam

Berdasarkan Tabel 2 dan 3 persentase viabilitas fibroblas HDF-line pada pengamatan 24 dan 48 jam ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. tertinggi terdapat pada konsentrasi 1,56% dan terendah pada konsentrasi 50%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin rendah nilai *optical density* yang menunjukkan semakin rendahnya persentase viabilitas fibroblas HDF-line. Terdapat penurunan viabilitas fibroblas HDF-line dari pengamatan 24 ke 48 jam yang menunjukkan semakin lama paparan ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. berarti semakin toksik ekstrak tersebut pada fibroblas HDF-line. Analisis data dilakukan menggunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk* pada pengamatan 24 dan 48 jam menunjukkan nilai $p > 0,05$ yang berarti data terdistribusi normal. Uji *One-Way ANOVA* terhadap pengamatan 24 dan 48 jam menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan terhadap viabilitas fibroblas HDF-line. Uji lanjut *Post Hoc LSD* terhadap pengamatan 24 dan 48 jam menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan terhadap viabilitas fibroblas HDF-line.

Parameter IC₅₀ adalah parameter yang digunakan pada uji sitotoksitas yang menunjukkan konsentrasi dari suatu bahan yang dapat menghambat proliferasi sel hingga 50%.²⁰ Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan, dinyatakan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak kulit dalam buah lontar (*B. flabellifer* L) adalah rendah (12,29+0,44). Hal ini kemungkinan karena adanya kandungan antioksidan dalam ekstrak seperti flavonoid, fenol dan tannin yang cukup tinggi.⁸ Pada penelitian ini, konsentrasi 6,25%, 3,125% dan 1,56% ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L pengamatan 24 jam menunjukkan rata-rata persentase viabilitas fibroblast HDF-line di atas 50%. Namun, ekstrak dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% pada pengamatan 24 jam menunjukkan rata-rata jumlah sel yang mati lebih dari 50%. Begitu pula pada

pengamatan 48 jam, ekstrak konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,56% pada pengamatan 48 jam menunjukkan rata-rata jumlah kematian sel lebih dari 50%.

Tingkat toksisitas dari suatu bahan dapat diklasifikasikan berdasarkan jumlah sel yang hidup. Jika persentase viabilitas sel lebih dari 90% maka suatu bahan diklasifikasikan sebagai tidak toksik, viabilitas sel 60-90% sedikit toksik/toksik ringan (*mild*). Viabilitas sel 30-59% diklasifikasikan sebagai cukup toksik/toksik sedang (*moderate*) dan viabilitas sel kurang dari 30% diklasifikasikan sebagai sangat toksik/toksik berat (*severe*).²¹ Persentase viabilitas fibroblas HDF-*line* pada konsentrasi 1,56% ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L pengamatan 24 jam adalah 65% yang berarti ekstrak pada konsentrasi tersebut diklasifikasikan sebagai toksik ringan. Persentase viabilitas fibroblas HDF-*line* pengamatan 24 jam pada konsentrasi 3,125% adalah 58%, konsentrasi 6,25% adalah 50%, konsentrasi 12,5% adalah 46% dan konsentrasi 25% adalah 36% yang menunjukkan konsentrasi tersebut diklasifikasikan sebagai toksik sedang. Persentase viabilitas fibroblast HDF-*line* pengamatan 24 jam pada konsentrasi 50% adalah 27% yang berarti konsentrasi tersebut diklasifikasikan sebagai toksik berat. Persentase viabilitas fibroblast HDF-*line* pengamatan 48 jam pada konsentrasi 1,56% adalah 47%, konsentrasi 3,125% adalah 41%, konsentrasi 6,25% adalah 32,5% dan konsentrasi 12,5% adalah 30% yang menunjukkan konsentrasi tersebut diklasifikasikan sebagai toksik sedang. Persentase viabilitas fibroblast HDF-*line* pengamatan 48 jam pada konsentrasi 25% adalah 23,4% dan konsentrasi 50% adalah 17,6% yang berarti konsentrasi ekstrak tersebut diklasifikasikan sebagai toksik berat.

Pada dosis tinggi senyawa bioaktif dapat bersifat toksik.²² Flavonoid yang merupakan salah satu senyawa bioaktif jika berlebihan dapat bersifat toksik bagi sel sehingga akan menyebabkan sel pecah atau lisis.²³ Efek sitotoksik yang dihasilkan oleh alkaloid juga dapat menyebabkan terjadinya kebocoran pada membrane sel fibroblas serta konsentrasi tanin yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya mutasi sel dan terjadinya pemecahan lemak dan penimbunan senyawa yang disebabkan oleh lipoprotein sel dan ikatan senyawa polar tannin sehingga permeabilitas fibroblas terganggu dan menjadi nekrosis.²⁴

Pada penelitian ini konsentrasi yang digunakan tertinggi yaitu 50% dan konsentrasi 1,56% - 50% dari ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. bersifat toksik terhadap sel fibroblas dengan intensitas meningkat sesuai dengan peningkatan konsentrasi ekstrak sehingga boleh dikatakan ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L tidak

biokompatibel terhadap sel normal tubuh atau bersifat sitotoksik. Oleh karena itu perlu diketahui lebih lanjut sifat sitotoksitas ekstrak terhadap sel tubuh lain, misal terhadap sel pertahanan tubuh pada keadaan radang atau alergi.

KESIMPULAN

Pada pengamatan 24 jam, konsentrasi 1,56% ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. diklasifikasikan sebagai toksik ringan (*mild*) terhadap fibroblas HDF-*line*. Konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25% sebagai toksik sedang (*moderate*). Konsentrasi 50% ekstrak diklasifikasikan sebagai toksik berat (*severe*). Pada pengamatan 48 jam, konsentrasi 1,56%, 3,125%, 6,25%, dan 12,5% ekstrak kulit *B. flabellifer* L diklasifikasikan sebagai toksik sedang (*moderate*) terhadap fibroblas HDF-*line*, dan konsentrasi 25% dan 50% diklasifikasikan sebagai toksik berat (*severe*). Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak kulit dalam *B. flabellifer* L. bersifat toksik terhadap sel fibroblas mulai dari konsentrasi 1,56% dengan intensitas yang meningkat pada peningkatan konsentrasi dan jam pengamatan. Diharapkan hasil penelitian ini dapat dimanfaatkan untuk data pendahuluan bagi penelitian lanjutan terhadap sel pertahanan tubuh seperti sel makrofag dan sel sistem imun adaptif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lestaridewi NK, Jamhari M, Isnainar. Kajian pemanfaatan tanaman sebagai obat tradisional di Desa Tolai Kecamatan Torue Kabupaten Parigi Moutong. e-JIP Biol. 2017;5(2):92-108.
2. Dwisatyadini M. Pemanfaatan tanaman obat untuk pencegahan dan pengobatan penyakit degeneratif. Optimalisasi peran sains dan teknologi untuk mewujudkan Smart City. Tangerang Selatan: Universitas Terbuka; 2017. p.245.
3. Bustanussalam. Pemanfaatan obat tradisional (herbal) sebagai obat alternatif. BioTrends. 2016;7(1):20.
4. Salim Z, Munadi E. Info komoditi tanaman obat. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia; 2017. p.1.
5. Tambunan P. Potensi dan kebijakan pengembangan lontara untuk menambah pendapatan penduduk. J Analis Kebijakan Kehutan. 2010;7(1):29.
6. Singchai B, Kansane K, Chourykaew B. Phytochemical screening and biological activities of borassus flabellifer L. Asian J Pharm Clin Res. 2015;8(3):151-3.
7. Duddukuri GR, Yarla NS, Kaladhar DSVGK, Konuku KR, Chaitanya K. Antibacterial activity of

- methanolic seed coat extract of *Borassus flabellifer* L. *Int J Pharm Sci Res.* 2011;2(9):2435–38.
8. Sudiono J, Susanto GR. Antioxidant content of palm fruit (*Borassus flabellifer* L.) seed coat. *Biomed J Sci Tech Res.* 2021;34(3):26695-99.
 9. Ma'ruf MT. Fiksasi tulang dengan alat berbahan dasar polimer (Uji biokompatibilitas). *Interdental J Kedokteran Gigi.* 2018;14(2):1-5.
 10. Wati EM, Puspaningtyas AR, Pangaribowo DA. Uji sitotoksitas dan proliferasi senyawa 1-(4-trifluorometilbenzoyloksimetil)-5-fluorourasil terhadap sel kanker payudara mcf-7 (cytotoxicity and proliferation assay of 1-(4-trifluoromethylbenzoyloxymethyl)-5-fluorouracil) on mcf-7 breast cancer cell). *J Pustaka Kesehatan.* 2016;4(3):1-5.
 11. Aslanturk OS. In vitro cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages, and disadvantages. In: Larramendy ML, ed. *Genotoxicity - A predictable risk to our actual world.* London: IntechOpen; 2017. p. 6.
 12. Mahfur. Uji sitotoksik fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) terhadap sel kanker t47d dengan metode 3-(4,5 dimetiltiazol -2-il)- 2,5 difenil tetrazolium bromide (mtt). Jakarta: AgroMedia Pustaka. 2016; 27.
 13. Vajrabhaya L, Korsuwannawong S. Cytotoxicity evaluation of a Thai herb using tetrazolium (MTT) and sulforhodamine b (SRB) assays. *J Analytical Sci Technol.* 2018; 9(1):15.
 14. Susanti A. Sitotoksitas tissue conditioner terhadap biakan sel fibroblas gingiva manusia. *Interdental J Kedokteran Gigi.* 2014;5(2):46–51.
 15. Nisa FK, Kasmui K, Harjito H. Uji aktivitas antioksidan pada modifikasi senyawa khrisin dengan gugus alkoksi menggunakan metode recipe model 1. *Indones J Mat Nat Sci.* 2016;38(2):161.
 16. Zuraida, Sulistiyani, Sajuthi D, Suparto IH. Fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). *J Penelitian Hasil Hutan (J Forest Prod Res).* 2017;35(3):212.
 17. Widiyati E. Penentuan adanya senyawa triterpenoid dan uji aktivitas biologis pada beberapa spesies tanaman obat tradisional masyarakat Pedesaan Bengkulu. *J Gradien.* 2006;2(1):116–22.
 18. Malanggi L, Sangi M, Paendong J. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *J MIPA UNSRAT.* 2012;1(1):6.
 19. Nararya SA, Jularso E, Budhy TI. Uji toksisitas daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap sel fibroblas gingiva menggunakan uji MTT assay. *J Biosains Pascasarjana.* 2015;17(1):1-8.
 20. Haryoto, Muhtadi, Indrayudha P, Azizah T, Suhendi A, Haryoto, et al. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol tumbuhan sala (*Cynometra ramiflora* Linn) terhadap sel HeLa, T47D dan WiDR. *J Penelit Saintek.* 2013;18:23.
 21. Safira FH. Sitotoksitas ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar terhadap kultur sel line fibroblas BHK-21 [Skripsi]. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; 2016.
 22. Mappasomba M, Wirasmanto B, Malaka MH, Wahyuni W, Sahidin I. Penapisan fitokimia dan uji toksisitas akut ekstrak metanol beberapa tanaman obat terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Pharmuho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan.* 2020;5(2):32.
 23. Vitria RDN, Yuanita T, Pribadi N. Uji viabilitas flavonoid ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap sel fibroblas BHK-21. *Conserv Dent J.* 2015;5(2):30.
 24. Fitriani F, Soetojo A, Subiwahjudi A, Yuanita T. Sitotoksitas ekstrak kulit kakao (*Theobroma cacao*) terhadap kultur sel fibroblas BHK-21. *Conserv Dent J.* 2019;9(1):61–2.