

**Uji sitotoksitas ekstrak sambiloto  
(*Andrographis paniculate ness*) pada sel  
fibroblas dengan MTT**

**Sugandi Mastia Anugrah, Devi Rianti, Titien Hary  
Agustantina**

Departemen Material Kedokteran Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga  
Surabaya, Indonesia

**ABSTRAK**

Sambiloto (*Andrographis Paniculate Ness*) merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan alternatif larutan irigasi saluran akar. Kandungan zat-zat fitokimia dalam ekstrak sambiloto telah terbukti memiliki daya antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*. Sebagai bahan alternatif larutan irigasi saluran akar yang ideal tidak hanya diperlukan sifat anti bakteri tetapi juga tidak toksik terhadap jaringan, akan tetapi hingga saat ini belum ada penelitian lebih lanjut mengenai uji sitotoksitas ekstrak sambiloto terhadap fibroblas gingiva manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak sambiloto memiliki efek sitotoksik terhadap sel fibroblas gingiva manusia. Pembuatan ekstrak sambiloto dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% serta dilakukan pengenceran pada konsentrasi 100% sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 25 %, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 2%, 1%, 0,50%, 0,25%. Uji sitotoksitas yang diuji pada sel fibroblas gingiva manusia dilakukan dengan menggunakan uji esai MTT. Sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto berbagai konsentrasi. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37oC. Setelah dilakukan inkubasi 24 jam, dilakukan pemberian MTT pada plate dan diinkubasi kembali selama 4 jam dan dilakukan pembacaan menggunakan ELISA reader. Kepadatan optik formazan menunjukkan jumlah sel hidup. Data penelitian dianalisis menggunakan uji one-way Anova dan uji Tukey HSD. Hasil analisis data menunjukkan terdapat perbedaan signifikan persentase sel hidup fibroblas gingiva manusia setelah pemberian ekstrak sambiloto dengan berbagai konsentrasi. Disimpulkan ekstrak sambiloto dengan konsentrasi 25 % menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel fibroblas gingiva dan pada konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 2%, 1%, 0,50%, 0,25% tidak menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel fibroblas gingiva.

**Korespondensi:**

Sugandi Mastia Anugrah  
Email:sugandi.mastia@gmail.com

**Kata kunci:** ekstrak sambiloto, sitotoksitas, fibroblas gingiva manusia

## **Cytotoxicity test of sambiloto (*Andrographis paniculate* Nees) extract toward human gingival fibroblast with MTT**

### **ABSTRACT**

*Sambiloto (Andrographis Paniculate Nees) is a plant that can be used as an alternative material for root canal irrigation solutions. The content of phytochemicals in sambiloto extract has been shown to have antibacterial against Enterococcus faecalis. Ingredients for ideal root canal irrigation solutions, in addition to anti-bacterial properties are also not toxic, so it is necessary to test cytotoxicity of sambiloto extract against human gingival fibroblasts. The aims of this study is to determinate whether the sambiloto extract has cytotoxic effect on human gingival fibroblast. The sambiloto extract was made by maceration method using ethanol 96% and certain dilution at 100% performed to obtain concentration 25 %, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%, 2%, 1%, 0.50%, 0.25%. The cytotoxicity being tested on human gingival fibroblast by using MTT assay. Fibroblast cells are exposed to various concentrations of sambiloto extract. Formazan optical density was read using an ELISA reader at a wavelength of 595 nm. Data analysis used the one-way Anova test and Tukey HSD test. There were significant differences in the percentage of living cells of human gingival fibroblasts after administration of sambiloto extract with various concentrations, but there was no significant difference in the percentage of living fibroblasts cells between groups D (3.125%) and F (2%), E (1.56%) and F (2%) and group G (1%) and H (0.5%). Conclusions, sambiloto extract with a concentration of 25% showed a cytotoxic effect, while at a concentration of 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%, 2%, 1%, 0.50%, 0.25% showed no cytotoxic effect against gingival fibroblasts.*

**Keywords::** *Sambiloto extract, cytotoxicity, human gingival fibroblast*

### **LATAR BELAKANG**

Perawatan saluran akar dalam bidang kedokteran gigi merupakan salah satu alternatif pilihan perawatan untuk penyakit pulpa pada saluran akar dengan cara menghilangkan bakteri dan produk metabolisme dari sistem saluran akar.<sup>1</sup>

Irigasi merupakan bagian penting pada perawatan saluran akar. Bahan irigasi berfungsi sebagai pelarut sisa jaringan organik, desinfektan dan pelumasan pada sistem saluran akar. Dengan pemberian bahan irigasi pergerakan alat lebih mudah. Irigasi saluran akar akan menyebabkan pelarutan sisa jaringan organik dan membersihkan serpihan dentin.<sup>2</sup>

Saluran akar terdapat beberapa jenis bakteri antara lain bakteri *Enterococcus faecalis*. Bakteri *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri yang banyak ditemukan pada kegagalan perawatan saluran akar. Prevalensi keberadaan bakteri *Enterococcus faecalis* pada kegagalan perawatan saluran akar mencapai 24%-77%.<sup>3</sup> *Enterococcus Faecalis* adalah bakteri golongan kokus anaerob fakultatif gram positif dan termasuk dalam bakteri infeksi dalam perawatan endodontik yang sering diisolasi dari perawatan saluran akar yang gagal, bakteri ini dapat hidup di berbagai lingkungan termasuk dalam pH yang ekstrem.<sup>4</sup>

Perawatan saluran akar bahan yang sering digunakan adalah sodium hipoklorit yang memiliki sifat yang proteolitik atau sifat yang dapat mengurai suatu rantai molekul enzim, juga bersifat anti mikroba yang cukup baik untuk bakteri gram positif, bakteri negatif, spora, virus dan jamur.<sup>5</sup> Pada kondisi tertentu sodium hipoklorit dapat bersifat iritan pada pulpa dan, akan menyebabkan rasa sakit, bisa juga terjadi pendarahan serta pembengkakan atau oedema yang luas.<sup>6</sup>

Tanaman herbal yang sering digunakan sebagai alternatif suatu pengobatan adalah penggunaan tanaman sambiloto (*Andrographis paniculate* Nees). Sambiloto dipercaya masyarakat untuk mengobati segala macam penyakit, mudah didapat dan harganya relatif murah.<sup>7</sup> Ekstrak sambiloto ini merupakan bahan yang

memiliki kandungan kimia flavonoid. Senyawa flavonoid ini memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antivirus, dan antibakteri.<sup>8</sup> Sambiloto juga memiliki komponen saponin, alkaloid, kalsium, natrium dan asam kersik.<sup>9</sup>

Pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan pengujian ekstrak sambiloto terhadap bakteri *Enterococcus Faecalis* menunjukkan konsentrasi bunuh minimal sebesar (KBM) 2,09 % dan konsentrasi hambat minimal (KHM) sebesar 1,56 %.<sup>10</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Akowuah et al.<sup>11</sup> menunjukkan bahwa saponin yang terkandung dalam sambiloto ini memiliki efek toksik pada kelangsungan hidup sel dan merupakan indikator dalam melakukan uji toksisitas. Saponin telah dilaporkan dapat menginduksi apoptosis, merusak membran sel dan dapat menghambat proliferasi sel. Bahan yang diaplikasikan ke dalam rongga mulut harus memiliki sifat biokompatibilitas dan tidak menghambat atau merugikan jaringan hidup di sekitarnya.<sup>12</sup> Bahan kedokteran gigi agar dapat digunakan di rongga mulut perlu dievaluasi dengan cara dilakukan uji sitotoksitas yang berguna untuk dapat menentukan potensi toksik yang dihasilkan oleh bahan sehingga dapat ditentukan dosis yang tepat. Uji sitotoksitas berguna untuk menentukan potensi sitotoksik yang mungkin dihasilkan suatu bahan sehingga dapat ditentukan dosis penggunaan yang tepat.<sup>13</sup> Dari beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa saponin memiliki kandungan yang berpotensi sitotoksik maka perlu dilakukan uji sitotoksitas mengenai ekstrak sambiloto sebagai alternatif bahan irigasi saluran akar.

Salah satu metode untuk menguji sitotoksitas suatu bahan adalah dengan menggunakan esai MTT. Esai MTT merupakan sebuah pengujian kolorimetrik kuantitatif yang berfungsi untuk melihat jumlah metabolisme sel aktif.<sup>14</sup> Pengamatan terhadap metabolisme sel untuk uji sitotoksitas dapat dilakukan pada kultur sel fibroblas.<sup>13</sup> Fibroblas merupakan sel yang berperan penting dalam mukosa rongga

mulut.<sup>15</sup>

Hingga saat ini belum terdapat penelitian mengenai uji sitotoksitas ekstrak sambiloto terhadap sel fibroblas gingiva manusia dalam usaha pengembangan alternatif bahan irigasi saluran akar. Berdasarkan latar belakang tersebut di atas maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui sitotoksitas ekstrak sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) terhadap sel fibroblas gingiva manusia. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan sifat sitotoksik ekstrak sambiloto terhadap sel fibroblas gingiva manusia.

#### **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian post test only control group design. Sampel pada penelitian ini adalah seng oksida ekstrak sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees). Kelompok sampel terbagi menjadi 9 dengan besar sampel sebanyak 6.

Proses pembuatan ekstrak Sambiloto dilakukan di Laboratorium Dasar Bersama, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga dan uji sitotoksitas dilakukan di Stem Cell Research Development Center Universitas Airlangga. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah water bath (Buchi, Indonesia), tabung erlenmeyer, digital shaker (Daihan scientific, Korea), rotary evaporator (Buchi, Indonesia), ELISA reader (Biorad, California), petri dish, minisart filters pore 0,2  $\mu\text{m}$  (Sartorius, Jerman), inkubator CO<sub>2</sub> (Esco, Singapura), vortex (Advantec, USA), eppendorf, glass slab tebal, spatula semen, timbangan analitik (A&D, USA), paper pad, cetakan plastik diameter 5 mm dan tinggi 2 mm<sup>16</sup>, celluloid strip, mortar & pestle. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak sambiloto 100%, sel fibroblas gingiva manusia, Phosphat Buffer Saline (PBS), Media kultur Minimum Essential Medium Eagle Alpha Modification (Alpha MEM), Dimethyl sulfoxide (DMSO), bubuk MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) dan trypsine Ethylene Diaminete Traaetic Acid (EDTA).

Proses ekstrak sambiloto dilakukan dengan menimbang tanaman sambiloto

yang sudah kering, sebanyak 500 g kemudian dihaluskan menggunakan blender. Sambiloto yang halus direndam dalam etanol 96% kemudian diletakkan di atas digital shaker dengan kecepatan 50 rpm selama 48 jam. Hasil maserasi sambiloto disaring kemudian ditampung dalam tabung erlenmeyer. Maserat sambiloto. diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator bertekanan 175atm. Ekstrak sambiloto hasil evaporasi didapatkan hasil sebanyak 190 ml dengan konsentrasi 100%. Ekstrak sambiloto 100% dimasukkan dalam botol kaca kemudian disimpan di dalam kulkas.

Kultur sel fibroblas gingiva manusia yang telah diinkubasi diambil kemudian media kultur Alpha MEM dalam petri dish dibuang. Kultur sel dicuci dengan PBS 1 kali kemudian ditambahkan trypsine EDTA 2 ml. Media kultur Alpha MEM ditambahkan kemudian kultur sel dibagi dalam microplate 96 well sebanyak 3-5 x 10<sup>3</sup>, diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Well pada kolom ke-1 digunakan sebagai kontrol media. Well pada kolom ke-2 digunakan sebagai kontrol sel. Well pada kolom ke-3 hingga ke-11 diberi sampel sesuai kelompok sebanyak 50 µl. Microplate kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Microplate ditambahkan MTT yang dilarutkan dalam PBS 5 mg/ml sebanyak 25 µl kemudian diinkubasi selama 4 jam. Media kultur Alpha MEM dalam microplate dibuang kemudian ditambahkan DMSO sebanyak 100 µl tiap well. Formazan dibaca absorbansinya pada sel fibroblas gingiva manusia secara spektrofotometri dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm.

Persentase sel hidup dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{OD perlakuan} - \text{OD media}}{\text{OD kontrol sel} - \text{OD media}} \times 100\%$$

Keterangan:

% Sel hidup = Persentase jumlah sel hidup setelah perlakuan.

OD perlakuan = Nilai OD (optical density) formazan setiap sampel setelah pengujian.

OD media = Nilai OD (optical density) formazan pada rata-rata setiap kontrol media.

OD sel = Nilai OD (optical density) formazan pada rata-rata kontrol sel

Data yang diperoleh dilakukan uji analisis data one-way Anova dengan tingkat signifikansi 0,05 untuk melihat perbedaan signifikan pada seluruh kelompok. Jika data hasil penelitian terdapat perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok.

## HASIL

Tabel 1 Besar sampel, rerata densitas optikal, persentase sel hidup fibroblas gingiva manusia dan standar deviasi.

Rerata				
Kelompok	n	Densitas Optikal	Persentase sel hidup	Standar deviasi
A	6	0,286	45,669 %	0,006325
B	6	0,390	64,800 %	0,007250
C	6	0,435	73,003%	0,008246
D	6	0,470	79,369%	0,004370
E	6	0,494	83,900%	0,005037
F	6	0,481	81,512%	0,004622
G	6	0,514	87,450%	0,005089
H	6	0,525	89,593%	0,005913
I	6	0,549	93,970%	0,006928

Keterangan :

A=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 25%

B=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 12,5%

C=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 6,25%

D=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 3,125%

E=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 1,56%

F=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 2%

G=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 1%

H=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 0,5%

I=kultur sel fibroblas dipapar dengan ekstrak sambiloto 0,25%

Pada tabel 1 dapat dilihat persentase sel hidup tertinggi terdapat pada kelompok sel fibroblas yang dipapar dengan ekstrak sambiloto 0,25% (I) sebesar 93,970%. Persentase sel hidup terendah dari data hasil

penelitian terdapat pada kelompok dipapar dengan ekstrak sambiloto 25% (A) sebesar 45,669%.

Syarat untuk melakukan uji analisis data one-way Anova adalah data penelitian berdistribusi normal dan homogeny. Hasil uji Kolmogorov-Smirnov pada penelitian ini didapatkan seluruh kelompok sampel mempunyai nilai  $p > 0,05$ , sehingga dapat diartikan seluruh kelompok data penelitian berdistribusi normal. Data selanjutnya dilakukan uji Levene untuk mengetahui homogenitas data. Hasil uji Levene pada data penelitian ini menunjukkan probabilitas 0,748 ( $p > 0,05$ ), sehingga dapat diartikan data penelitian homogen.

Hasil uji data penelitian menggunakan one-way Anova menunjukkan nilai probabilitas 0,005 ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada seluruh kelompok sampel. Hal tersebut dapat diartikan bahwa sel fibroblas gingiva manusia yang diberi ekstrak sambiloto. 100% dan eugenol) menunjukkan perbedaan signifikan terhadap persentase sel hidup fibroblas gingiva manusia. Analisis data dilanjutkan dengan menggunakan uji Tukey HSD. Hasil uji Tukey HSD dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel. 2 Hasil uji Tukey HS

Kelompok				Kelompok				
A	B	C	D	E	F	G	H	I
A	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
B		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
C			0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
D				0,000*	0,041	0,000*	0,000*	0,000*
E					0,014	0,000*	0,000*	0,000*
F						0,000*	0,000*	0,000*
G							0,041	0,000*
H								0,000*

Keterangan:

\* = Perbedaan signifikan

Hasil uji Tukey HSD menunjukan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada seluruh kelompok konsentrasi ekstrak sambiloto. Ada beberapa kelompok yang tidak memiliki

perbedaan bermakna antara lain pada kelompok D dan F, E dan F dan kelompok G dan H.

## PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian uji sitotoksitas ekstrak sambiloto terhadap sel fibroblas gingiva manusia dengan beberapa konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, Parameter yang sering digunakan untuk menentukan sitotoksitas in vitro adalah Inhibition Concentration 50% (IC 50). Secara umum IC 50 merupakan konsentrasi suatu bahan yang mampu menghambat proliferasi sel hingga 50% dari populasi. Pada tabel 5.1 dapat dilihat bahwa sel hidup fibroblas gingiva manusia dengan nilai lebih dari 50% terdapat pada kelompok B (6,25%) hingga kelompok I (0,25%). Berdasarkan parameter IC50 dapat diartikan bahwa pada kelompok tersebut tidak bersifat sitotoksik terhadap fibroblas gingiva manusia.

Hasil analisis data one-way Anova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada seluruh kelompok sampel. Hal tersebut dapat diartikan bahwa sel fibroblas gingiva manusia yang diberi paparan ekstrak sambiloto menunjukkan perbedaan persentase sel hidup yang signifikan terhadap fibroblas gingiva manusia. Hal ini dapat diasumsikan bahwa semakin banyak ekstrak yang dipaparkan ke sel fibroblas gingiva manusia menyebabkan sel fibroblas gingiva manusia makin banyak yang mati. Hal tersebut dipengaruhi oleh kandungan pada bahan yang berpotensi menyebabkan sitotoksik yaitu alkaloid, tanin dan saponin.

Pada hasil analisis data penelitian dengan uji Tukey HSD menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan persentase sel hidup fibroblas gingiva manusia antar kelompok konsentrasi. Persentase sel hidup pada kelompok A yaitu sel fibroblas yang dipapar dengan ekstrak sambiloto 25% adalah sebesar 45,669%. Berdasarkan parameter IC<sub>50</sub> dapat dikatakan bahwa kelompok A bersifat sitotoksik terhadap sel fibroblas gingiva manusia. Hal ini disebabkan karena kelompok A memiliki kandungan ekstrak

sambiloto yang lebih besar dibandingkan kelompok lain. Pada ekstrak sambiloto memiliki kandungan alkaloid, tanin dan saponin yang berpotensi untuk menghambat proliferasi sel.<sup>17</sup> Pada penelitian yang pernah dilakukan, menunjukkan hasil bahwa alkaloid dapat menghambat proliferasi sel dengan cara merusak transkripsi DNA sehingga sel menjadi lisis.<sup>18</sup>

Sitotoksitas pada kelompok A tidak hanya di pengaruhi oleh alkaloid saja namun juga di pengaruhi oleh kandungan lain seperti saponin dan tanin. Pada kelompok A karena kandungan ekstrak yang terkandung dalam media kultur Alpha MEM yang lebih tinggi menyebabkan sifat sitotoksik kelompok A lebih tinggi dibandingkan kelompok lain. Terdapat komponen yang dapat memengaruhi sifat toksisitas pada suatu bahan salah satunya adalah struktur kristal, kemurnian, komposisi kimia, media yang digunakan dan kelarutan atau kemampuan bahan melepaskan suatu ion.<sup>19,20</sup> Kandungan saponin menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, lalu berdifusi ke membran luar dan akhirnya dinding sel menjadi rentan. Dinding sel yang rentan mengikat membran sitoplasma, kemudian stabilitas membran sel menjadi berkurang. Akibatnya, sitoplasma bocor dan sel bakteri mengalami kematian.<sup>21</sup>

Kelompok pada konsentrasi dibawah 25%, menunjukan presentase sel hidup diatas 50%, dilihat menggunakan parameter IC50 tidak bersifat toksik hal ini dapat terjadi karena aktivitas dari senyawa alkaloid, saponin, tanin yang dapat membantu proliferasi sel serta konsentrasi yang kecil yang dapat bersifat sitoprotektif terhadap sel. Hasil penelitian yang pernah dilakukan menunjukan bahwa semakin rendah konsentrasi suatu ekstrak maka senyawa-senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak sambiloto juga hanya jumlah yang kecil sehingga tidak memberikan pengaruh biologis yang optimal pada sel.<sup>22</sup>

Hasil analisis Tukey HSD menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan persentase sel hidup fibroblas gingiva manusia antara D dan F, E dan F dan kelompok G dan H dengan nilai persentase sel hidup

79,363%, 83,93%, 81,512%, dan 87,450%. Hal tersebut membuktikan bahwa ekstrak sambiloto konsentrasi 3,125%, 1,56%, 2%, dan 1% tidak bersifat sitotoksik.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Carrotte, P 2004, 'Endodontics: part 1 'The modern concepts of root canal treatment', British Dental Journal, vol. 197, no. 4, pp. 181-90.
2. Tarigan, R 2012, Perawatan pulpa gigi, 3th edn, EGC, Jakarta, p. 128-132.
3. Torabinejad, M & Walton, R 2008, Prinsip dan praktik ilmu endodonsia , 3th edn. EGC, Jakarta, pp. 243-4.
4. Lam, TSK, Wong, OF & Tang, SYH 2010, 'A case report of sodium hypochlorite', Hong Kong Journal of Emergency Medicine, vol. 17, no. 2, pp. 174-5.
5. Widyawati T 2007, 'Aspek farmakologi sambiloto', Majalah Kedokteran Nusantara, vol.4, no. 2 ,pp .216-220.
6. Lee, YS & Cha, JD 2010, 'Synergistic antibacterial activity of fig (*Ficus carica*) leaves extract against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*', Kor journal Microbiology Biotechnology, vol. 38, no. 4, pp. 405-7.
7. Akowuah, GA, Zhari, I, Norhayati, I & Mariam, A 2006, 'PLC and HPTLC densitometric determination of andrographolides and antioxidant potential of *Andrographis paniculata*', J Food Compost Anal, vol. 19, pp. 118-26.
8. Hatrick, CD, Eakle, S & Bird, WF 2011, Dental Materials, 2nd edn, Senders Elsevier, Missouri, pp. 6-10.
9. Sukandar, E. Y. Tren. Pradigma dunia farmasi : industri-klinik-teknologi kesehatan . Available from : [http// www. itb.ac.id](http://www.itb.ac.id).
10. Ananda, ND 2017, 'Konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak sambiloto (*Andrographis Paniculate Ness*) terhadap bakteri *Enterococcus Faecalis*', Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya, pp. 34-40.
11. Gruhlke MCH, Nicco C, Batteux F, Slusarenko AJ. The effects of allicin, a reactive sulfur species from garlic, on a

- selection of mammalian cell lines. MDPI Journal 2017; 6 (1): 11.
12. Hatrick CD, Eakle S, Bird WF. Dental materials. 2nd ed. Missouri: Sanders Elsevier; 2011. p. 6.
  13. Hodgson E. A textbook of modern toxicology. 3rd ed. USA: John Wiley and Sons Inc; 2004. p. 13, 353.
  14. Hughes D, Mehmet H. Cell proliferation and apoptosis. United Kingdom: Bios scientific publisher; 2003. p. 23.
  15. Nanci, A. Ten cat's oral histology: Development, structure and function. 8th ed. USA: Elsevier; 2013. p. 84, 192-3.
  16. Nevozhay, D 2014, 'Cheburator software for automatically calculating drug inhibitory concentrations from in vitro screening assays', Plos One Journal, vol. 1, no. 1, pp. 1-5..
  17. Radak, M,S, & Andjelkovic, M, 2016, 'Studying genotoxic and antimutagenic effect of plant extract in drosophila test system'. Botanica Serbica journal, 40(1), pp.21-28
  18. Hakim, MD, Tjahjaningsing, W, Susarno. & Abdillah, AA. 2015, 'The effect of red algae (*Kappaphycus alvarezii*) against the total number of bacteria and organoleptic value of mackerel (*Rastrelliger sp.*)', Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, vol.7, no.1, pp.106-10.
  19. Djuricic, AB, Leung, YH, Ng, AMC, Xu, XY, Lee, PKH, Degger, N & Wu, RSS 2014, 'Toxicity of metal oxide nano particles : mechanisms, characterization, and avoiding experimental artefacts', Small Nanomicro Journal, pp. 3-15.
  20. Pokorni, J, Yanishlieva, N, & Gordon, M 2001, Antioxidant in food practical applications, CRC Press, New York.
  21. Nugroho, A, Rahardianingtyas, E, Putro, DBW & Wianto, R, 2016, 'Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) terhadap Daya Bunuh Bakteri *Leptospira sp.*', Salatiga: Media Litbangkes, vol. 26, pp. 77-83.
  22. Podolak, I, Galanty, A & Sobolewska, D 2010, ' Saponin as cytotoxic agents : a review', Phytochem journal rev 9, pp. 425-79.