

DENTIN
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol VII. No 3. AGUSTUS 2023

UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN GALAM
(*Melaleuca cajuputi subsp. Cumingiana Barlow*) PADA BHK-21 SEL FIBROBLAS

Brachmedio Barito Syech Erlangga¹⁾ Sherli Diana²⁾ , Debby Saputera³⁾ , Didit Aspriyanto⁴⁾ , Beta Widya Oktiani⁵⁾

- 1) Undergraduate Student of the Faculty of Dentistry, Lambung Mangkurat University, Banjarmasin, Indonesia
- 2) Department of Conservative Dentistry and Endodontics, Faculty of Dentistry, Lambung Mangkurat University, Banjarmasin, Indonesia
- 3) Department of Prosthodontics, Faculty of Dentistry, Lambung Mangkurat University, Banjarmasin, Indonesia
- 4) Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Lambung Mangkurat University, Banjarmasin, Indonesia
- 5) Department of Periodontics, Faculty of Dentistry, Lambung Mangkurat University, Banjarmasin, Indonesia

ABSTRACT

Background: Dental caries is a disease of the oral cavity in which one of the causative factors is bacteria. One of the natural ingredients that has the potential to be an antibiotic and lives in a wetland environment is the galam plant (*Melaleuca cajuputi subsp. Cumingiana Barlow*). The function of the toxicity test is to determine the toxic effects and safe dose limits of a chemical compound in this study testing galam leaf extract. **Purpose:** To analyze the toxic effect after administration of galam leaf extract (*Melaleuca cajuputi subsp. Cumingiana Barlow*) on BHK-21 fibroblast cells. **Methods:** This study was a true experimental study with a posttest-only design with a control group design to analyze the toxicity of galam leaf extract against Baby Hamster Kidney-21 (BHK-21) fibroblasts using the Microculture Tetrazolium Technique (MTT) assay method *in vitro*. **Results:** The results showed that the galam leaf extract not toxic because of the cell viability of all concentrations >100% and the IC₅₀ value which was impossible to achieve. The results of the Games-Howell post hoc test concluded that concentrations of 50%, 75%, and 100% were more effective than concentrations of 0.125%, 0.2%, 0.25%, and 0.4%. **Conclusion:** There is no toxic effect of galam leaf extract by MTT test on BHK-21 fibroblast cells.

Keyword: BHK-21 fibroblast cells, galam leaf extract, toxicity.

ABSTRAK

Latar Belakang: Karies gigi merupakan penyakit rongga mulut yang salah satu faktor penyebabnya adalah bakteri. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antibiotik dan hidup di lingkungan lahan basah adalah tanaman galam (*Melaleuca cajuputi subsp. Cumingiana Barlow*). Fungsi uji toksisitas adalah untuk mengetahui efek toksik dan batas dosis aman suatu senyawa kimia dalam penelitian ini pengujian ekstrak daun galam. **Tujuan:** Menganalisis efek toksik setelah pemberian ekstrak daun galam (*Melaleuca cajuputi subsp. Cumingiana Barlow*) terhadap sel fibroblas BHK-21. **Metode:** Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni (*true experimental*) dengan rancangan *posttest-only with control group design* untuk menganalisis toksisitas ekstrak daun galam terhadap sel fibroblas *Baby Hamster Kidney-21* (BHK-21) dengan metode *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT) *assay* secara *in vitro*. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun galam tidak toksik karena viabilitas sel pada semua konsentrasi >100% dan nilai IC₅₀ yang tidak mungkin tercapai. Hasil uji *post hoc Games-Howell* menyimpulkan bahwa konsentrasi 50%, 75%, dan 100% lebih efektif daripada konsentrasi 0,125%, 0,2%, 0,25%, dan 0,4%. **Kesimpulan:** Tidak ada efek toksik ekstrak daun galam dengan uji MTT terhadap sel fibroblas BHK-21.

Kata kunci: ekstrak daun galam, sel fibroblas BHK-21, toksisitas .

Koresponding: Brachmedio Barito Syech Erlangga; Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Veteran 128B, Banjarmasin, Indonesia; E-mail: brachmedioid@gmail.com

PENDAHULUAN

Data *Global Burden of Disease* (2015) melaporkan bahwa 2,3 miliar orang dewasa menderita karies gigi permanen dan 560 juta anak menderita karies gigi sulung.¹ Riset Kesehatan Dasar (2018) melaporkan bahwa 57,6% masyarakat Indonesia masih menderita karies gigi.² Karies gigi merupakan penyakit rongga mulut yang salah satu faktor penyebabnya adalah bakteri.³ Penemuan antibiotik berbahan alami seperti tanaman galam (*Melaleuca cajuputi subsp. Cumingiana Barlow*) memiliki keunggulan karena memiliki berbagai struktur kimia dan mekanisme unik.^{4,5} Tanaman galam hidup di lingkungan lahan basah seperti hutan rawa gambut, tepi sungai, dan pesisir.^{6,7}

Hasil penelitian Al-Abd *et al.* (2015) menunjukkan bahwa hasil analisis GC/MS ekstrak daun galam mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya sebagian besar mengandung senyawa aromatik seperti *alpha-tetralone* (7%) dan *1,4-naphthalenedione* (4,53%); senyawa polifenol seperti *ethanone* (11,6%); terpenoid seperti *caryophyllene bicyclo[7.2.0]undec-4ene* (3,64%), naftalena (3,79%), dan *sitosterol* (2,37%); flavonoid seperti *4H-1-benzopyran-4-on* (6,09%); *squalene* (2,05%); dan asam oktadekanoat (1,31%).⁸ Senyawa tersebut berpotensi sebagai antibiotik dan berpotensi tidak toksik.

Penelitian yang dilakukan oleh Musta *et al.* (2022) menunjukkan bahwa ekstrak daun galam memiliki efek antibiotik yang efektif terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan konsentrasi 75% dan 100%. Ekstrak tersebut juga cukup efektif terhadap bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100%.⁹ Hal ini juga didukung oleh penelitian pada tahun 2015 oleh Falci *et al.* dan Al-Abd *et al.* yang melaporkan bahwa ekstrak daun galam memiliki kadar hambat minimal 0,125% dan 0,2% serta kadar bunuh minimal 0,25% dan 0,4% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.¹⁰ Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa ekstrak daun galam bersifat antibiotik terhadap *Staphylococcus epidermidis* dengan kadar hambat minimalnya adalah 0,125% dan kadar bunuh minimalnya adalah 0,25%.⁸

Uji toksisitas adalah evaluasi awal bahan kedokteran gigi. Hasil uji praklinis tidak bisa secara tegas membuktikan keamanan, tetapi dapat membantu mengidentifikasi efek toksik jika terpapar manusia.¹¹ Uji praklinis harus didahulukan sebelum uji klinis untuk mengedepankan keamanan dan etika bagi subjek manusia.¹² Russell dan Burch mengajukan konsep 3R (*reduction, refinement, dan replacement*) sebagai dasar baru dalam etika eksperimen hewan.¹³ *Reduction* adalah pengurangan penggunaan hewan coba dalam uji toksisitas dengan cara menggunakan data penelitian *in vivo* terdahulu atau menggunakan satu kelompok kontrol untuk banyak penelitian. *Refinement* adalah penyempurnaan studi hewan untuk mempelajari cara mengurangi rasa sakit dan penderitaan yang dialami

hewan coba. *Replacement* adalah penggantian hewan uji coba dengan objek lainnya seperti kultur sel.¹⁴

Uji toksisitas berdasarkan lama waktu pengujiannya dibedakan menjadi tiga macam yaitu uji toksisitas kronis, subkronis, dan akut.¹⁵ Uji toksisitas akut adalah pengujian efek toksik suatu bahan yang terlihat segera setelah pemberian dengan dosis tunggal dalam 24 jam.¹⁶

Uji toksisitas penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel fibroblas *Baby Hamster Kidney-21* (BHK-21). Uji fibroblas dengan media BHK-21 paling banyak digunakan karena lebih stabil, mudah dikultur, sulit bermutasi, dan lebih sensitif. Metode uji penelitian ini menggunakan *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT) Assay. Metode uji ini paling sering digunakan karena mengukur sampel dalam waktu relatif cepat, jumlah besar, akurat, dan sensitif.¹⁷ Penelitian mengenai toksisitas ekstrak daun galam terhadap sel fibroblas BHK-21 belum pernah dilakukan sehingga perlu dilakukan penelitian tersebut

METODE PENELITIAN

Penelitian dengan judul uji toksisitas ekstrak daun galam (*Melaleuca cajuputi subsp. Cumingiana Barlow*) terhadap sel fibroblas BHK-21 (studi *in vitro* dengan metode MTT assay) telah dinyatakan layak secara etik oleh Komite Etika Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat dengan nomor 076/KEPKG-FKGULM/EC/V/2023. Penelitian ini menggunakan *true eksperiment* dengan *post test only with control group design*. Pengukuran yang dilakukan adalah viabilitas sel fibroblas BHK-21 yang dinilai berdasarkan nilai absorbansi ELISA reader. Uji determinasi dilakukan di Laboratorium Dasar FMIPA ULM Banjarbaru. Pembuatan ekstrak daun galam dilakukan di Perusahaan Jamu Pucuk Sirih Banjarmasin. Pengujian toksisitas metode MTT assay terhadap sel BHK-21 di Laboratorium Pusat Veteriner Farma (PUSVETMA) Surabaya.

Alat dan Bahan Penelitian

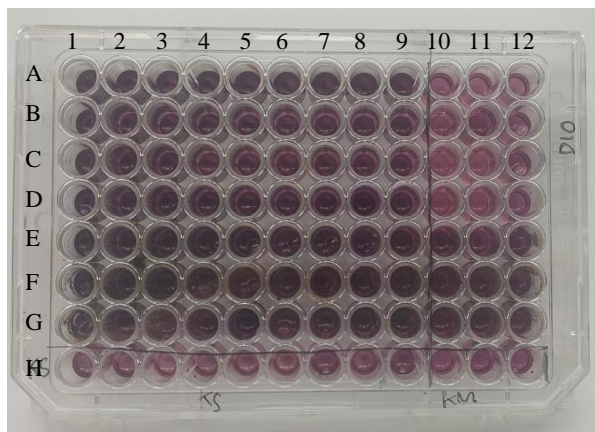
Penelitian ini menggunakan bahan sebagai berikut: daun galam, etanol 70%, kultur sel fibroblas BHK-21, *phosphate buffer saline* (PBS) (Sigma-Aldrich, USA), media *eagle's* (Gibco, USA), *fetal bovine serum* (FBS) (SERANA®, Jerman), *trypsin versene* (Lonza™, USA), *dimethyl sulfoxide* (DMSO) (Sigma-Aldrich, USA), dan *methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide* (MTT) (SIGMA, USA). Penelitian ini menggunakan alat sebagai berikut: baskom, kertas saring, gelas ukur, labu ukur, gelas beaker, blender, *waterbath*, oven, cawan porselin, timbangan analitik, botol kultur *flask/roux* (Duran®, Jerman), *96-well microplate* (TPP®, Swiss), ELISA reader (Thermo Fisher Scientific, USA), *automatic shaker* (Shreeji, India), *incubator* (Mettler, Jerman), *micropipet multichannel*, *laminar flow* (Clemco, Australia), dan *centrifuge*.

Uji Toksisitas dengan Metode MTT

Sel fibroblas BHK-21, sampel ekstrak daun galem, dan media *eagle's* awalnya disiapkan dalam 96-well microplate. 96-well microplate tersebut diinkubasi dengan CO₂ 5% dan suhu 37°C selama 24 jam. Media *eagle's* dibuang dengan hati-hati dan sel-sel dibilas 3 kali dengan PBS, kemudian ditambahkan kembali media *eagle's* baru dan FBS 10%. Senyawa MTT 0,1 mg/mL sebanyak 10 µl ditambahkan ke setiap well. 96-well microplate diinkubasi kembali dengan CO₂ 5% dan suhu 37°C selama 4 jam. Reaksi dihentikan menggunakan larutan DMSO 100µg/mL dan cawan diguncang selama 5 menit agar reaksi merata. Absorpsi formazan yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 620 nm sesuai dengan referensi ELISA reader yang tertera pada brosur kit. Hasil pembacaan absorbansi kemudian dihitung dengan rumus viabilitas Freshney:

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

HASIL



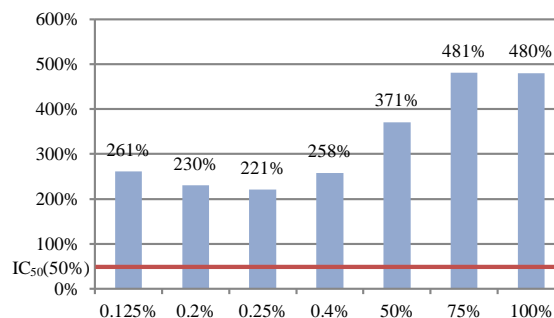
Gambar 1. Hasil uji toksisitas ekstrak daun galem terhadap sel fibroblas BHK-21.

Keterangan :

Konsentrasi ekstrak daun galem 0,125% (A1-A9); konsentrasi ekstrak daun galem 0,2% (B1-B9); konsentrasi ekstrak daun galem 0,25% (C1-C9); konsentrasi ekstrak daun galem 0,4% (D1-D9); konsentrasi ekstrak daun galem 50% (E1-E9); konsentrasi ekstrak daun galem 75% (F1-F9); konsentrasi ekstrak daun galem 100% (G1-G9); media kontrol (H10-H12); sel kontrol (H1-H9).

Hasil uji sitotoksitas menggunakan pewarnaan reagen MTT pada microplate 96-well yang telah diberi perlakuan ekstrak daun galem dengan konsentrasi 0,125%, 0,2%, 0,25%, 0,4%, 50%, 75% dan 100%. Well dengan konsentrasi ekstrak daun galem 50%, 75%, dan 100% menunjukkan warna ungu yang lebih pekat dibandingkan well dengan konsentrasi lebih rendah

(**Gambar 1**). Warna ungu tua pada well menunjukkan jumlah sel fibroblas BHK-21 tertinggi.



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak daun galem dengan viabilitas sel fibroblas BHK-21.

Konsentrasi 0,125%, 0,2%, 0,25%, 0,4%, 50%, 75% dan 100% nilai viabilitasnya lebih dari 100% (**Gambar 2**). Konsentrasi tertinggi yaitu 100% memiliki nilai viabilitas lebih dari 100%, sehingga dapat disimpulkan $IC_{50} > 0,1\%$. Suatu senyawa yang dianggap tidak beracun dapat dinilai dari kategori toksisitas terhadap bahan alam (IC_{50}) dan sitotoksitas menurut Sjorgen *et al.* (2000). Persentase viabilitas sel ekstrak daun galem lebih dari 90% dan $IC_{50} > 0,1\%$ sehingga ekstrak daun galem disimpulkan tidak beracun.

Analisis Hasil Penelitian

Tabel 2. Rata-rata, standar deviasi, dan uji normalitas (saphiro-wilk) uji toksisitas daun galem terhadap sel fibroblas BHK-21 secara in vitro.

Konsentrasi Ekstrak Daun Galem	Rata-rata ± Standar Deviasi (%)	Uji normalitas Saphiro-Wilk (Sig.)
0,125%	260,84 ± 34,05	0,825
0,2%	230,23 ± 26,36	0,54
0,25%	221,36 ± 15,64	0,691
0,4%	258,32 ± 51,12	0,111
50%	371,36 ± 77,86	0,064
75%	481,26 ± 112,51	0,84
100%	479,86 ± 68,38	0,913

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perhitungan viabilitas sel dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa sebaran data berdistribusi normal ($p > 0,05$) (**Tabel 2**). Uji homogenitas varians *Levene* menunjukkan bahwa data yang divariasikan tidak homogen dengan sig = 0,001 ($p < 0,05$).

Analisis parametrik *One-way Anova* digunakan untuk menguji signifikansi data terdistribusi. Hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan sig = 0,000 ($p < 0,05$). Uji *Post Hoc Games-Howell* dilakukan untuk

mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan.

Tabel 3. Hasil uji *Post Hoc Games-Howell* viabilitas sel BHK-21

Kelompok	0,125%	0,2%	0,25%	0,4%
0,125%		0,383	0,091	1.000
0,2%	0,383		0,971	0,759
0,25%	0,091	0,971		0,434
0,4%	1.000	0,759	0,434	
50%	0,029*	0,006*	0,004*	0,034*
75%	0,003*	0,001*	0,001*	0,003*
100%	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*

Kelompok	50%	75%	100%
0,125%	0,029*	0,003*	0,000*
0,2%	0,006*	0,001*	0,000*
0,25%	0,004*	0,001*	0,000*
0,4%	0,034*	0,003*	0,000*
50%		0,263	0,075
75%	0,263		1.000
100%	0,075	1.000	

Hasil analisis *Post Hoc Games-Howell* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dan tidak signifikan antara kelompok perlakuan. Simbol bintang (*) digunakan untuk menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok, sedangkan tidak ada simbol bintang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok (**Tabel 3**). Hasil analisis *Post Hoc Games-Howell* menyimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok konsentrasi 0,125%, 0,2%, 0,25%, dan 0,4% serta antara kelompok konsentrasi 50%, 75%, dan 100%. Konsentrasi 50%, 75% dan 100% lebih efektif daripada konsentrasi 0,125%, 0,2%, 0,25% dan 0,4%.

PEMBAHASAN

Pendeteksian absorbansi yang diterapkan pada ELISA reader didasarkan pada hukum Beer-Lambert dengan dalil "ketika cahaya ditransmisikan melalui medium maka sebagian cahaya diserap". Absorbansi berdasarkan rumusnya dipengaruhi oleh ketebalan medium, konsentrasi, dan koefisien absorbansi.¹⁸ Besar konsentrasi dan jenis sampel juga dapat mengganggu hasil uji toksisitas.¹⁹

Uji toksisitas ini bekerja dengan mewarnai aktivitas biokimia metabolisme sel dengan spektrofotometer. Sel

yang masih hidup akan diwarnai, sedangkan sel yang mati tidak akan diwarnai.²⁰ Semakin gelap warnanya, semakin banyak jumlah sel hidup dan semakin tinggi nilai absorbansinya.²¹

Klorofil adalah pigmen hijau yang biasa ditemukan pada daun dan tumbuhan berwarna hijau.²² Klorofil mampu menyerap panjang gelombang 430-660 nm sehingga klorofil dapat dihilangkan untuk menghindari kesalahan ELISA reader.²³ Salah satu metode yang dapat digunakan yaitu metode elektrokoagulasi.²⁴ Metode elektrokoagulasi dapat dilakukan karena klorofil mengandung Mg^{2+} dalam struktur senyawa intinya. Klorofil dapat terkoagulasi karena terbentuknya kompleks klorofil dengan ion yang dilepaskan dari elektroda katoda melalui mekanisme substitusi magnesium.²⁴

Viabilitas yang tinggi juga disebabkan kandungan metabolit sekunder ekstrak daun galam. Hasil penelitian Al-Abd *et al.* (2015) menunjukkan bahwa hasil analisis GC/MS ekstrak daun galam mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya sebagian besar mengandung senyawa aromatik seperti *alpha-tetralone* (7%) dan *1,4-naphthalenedione* (4,53%); senyawa polifenol seperti *ethanone* (11,6%); terpenoid seperti *caryophyllene bicyclo[7.2.0]undec-4ene* (3,64%), naftalena (3,79%), dan *sitosterol* (2,37%); flavonoid seperti *4H-1-benzopyran-4-on* (6,09%); *squalene* (2,05%); dan asam oktadekanoat (1,31%).⁸

Aromatik adalah senyawa organik utama yang mudah menguap dan mencemari udara. Senyawa ini umumnya memiliki titik didih rendah dan dapat beracun bagi sistem biologis.²⁵

Polifenol adalah contoh antioksidan non-enzimatik. Senyawa ini bereaksi dengan menghambat reaksi berantai radikal bebas. Senyawa antioksidan bereaksi dengan mengikat radikal bebas untuk mencegahnya mencapai target biologis.²⁶ Polifenol juga memiliki kemampuan mengurangi ROS dengan pembentukan *chelate* dengan ion logam transisi seperti Fe^{2+} dan Cu^{+} . Mekanisme tersebut membentuk radikal fenoksil yang bergabung dengan radikal lain sehingga terbentuk produk yang lebih stabil.^{27,28}

Flavonoid mampu mempertahankan viabilitas sel melalui mekanisme aktivasi Ca^{2+} pada mitokondria. Cara tersebut membuat sel mampu memproduksi ATP untuk bertahan hidup.²⁹ Flavonoid bertindak sebagai pelindung sel dari stres oksidatif serta mencegah presipitasi, denaturasi protein, kerusakan sintesis sel, dan kerusakan metabolisme sel.²⁷⁻²⁹

Terpenoid jenis tertentu dapat berperan sebagai antioksidan dengan cara mengikat radikal bebas yang tidak stabil sehingga melindungi sel dari kerusakan dindingnya.³⁰ Ikatan ini menstabilkan radikal bebas tidak stabil dan mengurangi kerusakan dinding sel dan mempercepat proliferasi sel.^{30,31}

Squalene adalah salah satu senyawa dari kelas triterpenoid dan juga senyawa intermediet dalam biosintesis senyawa sterol yang ada di hewan serta

tanaman. *Squalene* dapat bekerja sebagai antioksidan bersama dengan α -tokoperol dan β -sitosterol. *Squalene* juga dapat mengurangi tingkat oksidasi dalam reaksi *crocin bleaching*. *Squalene* memiliki sifat hidrofilik dan memiliki khasiat antiradikal. Efektivitas antioksidan *squalene* tergantung pada cara penyimpanan dan perlakuan selama proses produksi. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan antioksidan *squalene* pada hewan dan manusia.³²

Asam oktadekanoat adalah golongan metil ester yang berperan penting dalam antiinflamasi karena memiliki potensi penghambatan siklooksigenase (COX-2) dan prostaglandin.^{33,34} Ekspresi berlebih dari enzim COX-2 dan prostaglandin dapat meningkatkan pertumbuhan sel-sel abnormal dan memicu proses apoptosis.³⁵ Asam oktadekanoat juga memiliki aktivitas antioksidan.^{36,37}

Pembahasan fitokimia di atas menyimpulkan bahwa ekstrak daun galem memiliki potensi antioksidan yang tinggi. Hal ini sejalan dengan penelitian Wardhani RRAAK *et al.* (2018) yang melaporkan antioksidan kuat pada ekstrak etanol 70% daun galem.³⁸

Sekitar 1,5-5% oksigen akan diubah menjadi *reactive oxygen species* (ROS). ROS adalah radikal bebas yang berbahaya yang terus-menerus diproduksi sebagai produk sampingan dalam rantai transport elektron dari metabolisme aerobik dalam mitokondria. Ketidakseimbangan produksi ROS dengan pertahanan antioksidan di dalam tubuh dapat menyebabkan stress oksidatif sehingga terjadi kerusakan sel yang serius.²⁶ ROS dapat berdampak negatif pada beberapa struktur seluler seperti membran, lipid, protein, lipoprotein, RNA, dan DNA. Basis DNA guanosisin dapat dioksidasi menjadi 8-oksoguanosisin yang tidak lagi berpasangan basis dengan sitosin, tetapi dengan adenosin. Ini dapat menyebabkan mutasi sehingga muncul penyakit genetik seperti kanker.³⁹

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun galem tidak memiliki efek toksik terhadap sel fibroblas BHK-21. Hasil ini tidak sejalan dengan penelitian Zamzami ADRA *et al.* (2021) yang menguji toksisitas ekstrak metanol daun galem dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa terdapat efek toksik terhadap sel fibroblas BHK-21.⁴⁰ Hal ini bisa dijelaskan karena penelitian sebelumnya menggunakan pelarut metanol yang memiliki takaran toksik sekitar 6ml dan takaran letal sekitar 30–100ml. Enzim alkohol dehidrogenase (ADH) mengubah metanol menjadi formaldehida kemudian enzim formaldehidrogenase (FDH) mengubah formaldehida menjadi asam format.⁴¹ Asam format yang terakumulasi inilah yang menyebabkan toksik.⁴² Ketika asam format terakumulasi di mitokondria maka aktivitas enzim penting yang disebut sitokrom oksidase dapat terhambat. Hal ini mengakibatkan kondisi hipoksia histotoksik. Kondisi tersebut mengakibatkan sel-sel tidak mendapatkan cukup oksigen untuk berfungsi dengan baik. Penurunan pompa Na-K ATP-ase

membran pada membran sel juga terjadi sehingga mengurangi produksi ATP. Hal ini dapat mengakibatkan kerusakan sel atau nekrosis sel.⁴³

Kesimpulan dari penelitian ini adalah tidak adanya efek toksik ekstrak daun galem (*Melaleuca cajuputi subsp. Cumingiana Barlow*) terhadap sel fibroblas BHK-21 dengan menggunakan metode MTT assay.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Sugar and Dental Caries; 2017.
2. Kementerian Kesehatan RI. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Risksesdas); 2018.
3. Bilqis NM, Erlita I, Putri DKT. "Daya Hambat Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus acidophilus*". *Dentin J Kedokt Gigi*. 2018;2(1),26–31.
4. Bar FMA. "Genus *Melaleuca* - A Review on the Phytochemistry and Pharmacological Activities of the Non-Volatile Components". *Rec Nat Prod*. 2020;15(4),1–24.
5. Aryani F, Noorcahyati, Arbainsyah. Pengenalan *Atsiri* (*Melaleuca cajuputi*) (Prospek Pengembangan dan Penyulingan). Samarinda: Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Pertanian Negeri Samarinda; 2020.
6. Hadiyan Y, Widiyatno, Nurtjahjaningsih I, Na'iem M, Herdyantara B, Isno. "Genetic diversity and structure among four provenances of Galem (*Melaleuca cajuputi subsp. cumingiana*) and implications for gene conservation and rehabilitation of degraded peat swamp forest in Indonesia". *Forest Sci Technol*. 2022;18(4),135–43.
7. Noor AAM, Yusuf SM, Wahab WNAWA, Adam MFIC, Sul'ain MD. "Evaluation on Composition, Antioxidant and Toxicity of *Melaleuca cajuputi* Leaves". *Adv Tradit Med*. 2021;21,693–9.
8. Al-Abd NM, Nor ZM, Mansor M, Azhar F, Hasan MS, Kassim M. "Antioxidant, Antibacterial Activity, and Phytochemical Characterization of *Melaleuca cajuputi* Extract". *BMC Complement Altern Med*. 2015;15(1),1–13.
9. Musta R, Nurliana L, Darlian L, Rudi L. "Kinetics Study of Antibacterial Activity of *Cajuput Oil* (*Melaleuca cajuputi*) on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*". *Curr Appl Sci Technol*. 2022;22(3),1–10.
10. Falci SPP, Teixeira MA, Chagas PFD, Martinez BB, Loyola ABAT, Ferreira LM, et al. "Antimicrobial Activity of *Melaleuca* sp. Oil Against Clinical Isolates of Antibiotics Resistant *Staphylococcus aureus*". *Acta Cir*

- Bras. 2015:30,401–6.
11. Mukti AW, Sari DP, Syamsi N, Fauziah Y, Mildawati R, Setiawan MA, et al. "Penggolongan Obat". *Global Eksekutif Teknologi*; 2022.
 12. Pramudito D, Widjaja G. "Hak Subjek dan Potensi Pelanggaran Hak Asasi Manusia dalam Penelitian Medis". *Cross-border*. 2022:5(1),395–411.
 13. Fisher G. "Stem Cell Toxicology: Ethical and Epistemic Constraints on In Vitro Models". *HYLE–International J Philos Chem*. 2021:27(1),67–89.
 14. Fischer I, Milton C, Wallace H. "Toxicity Testing is Evolving!" *Toxicol Res (Camb)*. 2020:9(2),67–80.
 15. Pasaribu M, Ismail S, Nugroho H. "Toksisitas Akut Ekstrak *Albertisia papuana* Becc. pada *Daphnia magna* dan *Danio rerio*". *Biota J Ilm Ilmu-Ilmu Hayati*. 2019:3(3),96–103.
 16. Djohari M, Rahmawati N, Melati NI. Uji "Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour) Merr) terhadap Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L)". *J Penelit Farm Indones*. 2021:10(2),25–9.
 17. Fitriani F, Soetoyo A, Subiwahjudi A, Yuanita T. "Sitotoksisitas Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao*) terhadap Kultur Sel Fibroblas BHK-21". *Conserv Dent J*. 2019:9(1),54–65.
 18. Thiha A, Ibrahim F. "A Colorimetric Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) Detection Platform for a Point-of-Care Dengue Detection System on a Lab-on-Compact-Disc". 2015:15(5):11431–41.
 19. Mayerhöfer TG, Pahlow S, Popp J. "The Bouguer-Beer-Lambert Law : Shining Light on the Obscure". *Chem Phys Chem*. 2020;21(18),2029–46.
 20. Aslantürk OS. In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantage. *Genotoxicity-A Predict risk to our actual world*. 2018:2,64–80.
 21. Munadziroh E, Yuliati A, Ragilia AN. "Cytotoxicity Test of Sponge Amnion on BHK-21 Fibroblast Cell". *J Int Dent Med Res*. 2018:11(3),819–22.
 22. Saleh I, Halidun WONS. "Identifikasi Pigmen Klorofil dan Celah Energi pada Daun Cincau (*Cyclea barbata*) Sebagai Fotosensitizer Alami untuk Aplikasi DSSC". *J Kumparan Fis*. 2022:5(1),31–6.
 23. Zhao J, Chen X, Wei H xu, Lv J, Chen C, Liu X yu, et al. "Nutrient Uptake and Utilization in Prince Rupprecht's larch (*Larix principis-rupprechtii* Mayr.) Seedlings Exposed to A Combination of Light-emitting Diode Spectra and Exponential Fertilization". *Soil Sci Plant Nutr*. 2019:65(4),358–68.
 24. Pebriana RB, Lukitaningsih E, Siti MK. "Deklorofilasi Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.), Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*), dan Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) dengan Teknik Elektrokoagulasi". *Tradit Med J*. 2017:22(3),190–8.
 25. Biswas A, Mondal B. "A Brief Review on Aromatic Volatile Organic Compounds". *Int J Adv Sci Res Manag*. 2019:4(2),1–6.
 26. Sulaiman ISC, Basri M, Masoumi HRF, Chee WJ, Ashari SE, Ismail M. "Effects of Temperature, Time, and Solvent Ratio on The Extraction of Phenolic Compounds and The Anti-radical Activity of *Clinacanthus nutans* Lindau Leaves by Response Surface Methodology". *Chem Cent J*. 2017:11(1),1–11.
 27. Putri R, Cevanti TA, Sumekar H. "Sitotoksisitas Ekstrak Daun Mangrove Daruju (*Acanthus ilicifolius*) sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar (The Cytotoxicity of Daruju Mangrove (*Acanthus ilicifolius*) Leaf Extract as Root Canal Irrigation)". *Dent J Kedokt Gigi*. 2018:12(1),44.
 28. Salwa IN, Firdaus IWAK, Azizah A. Uji "Toksisitas Ekstrak Kulit Batang Ulin (*Eusideroxylon Zwageri*) Terhadap Sel Fibroblas BHK-21 Secara In Vitro". *Dentin*. 2021:5(3),148–53.
 29. Vitria RDN, Yuanita T, Pribadi N. "Uji Viabilitas Flavonoid Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap Sel Fibroblas BHK-21". *J Conserv Dent*. 2015:5(2),26–31.
 30. Jeong SH, Lee JE, Kim BB, Ko Y, Park JB. "Evaluation of The Effects of *Cimicifugae Rhizoma* on The Morphology and Viability of Mesenchymal Stem Cells". *Exp Ther Med*. 2015:10(2),629–34.
 31. Charyadie AGT, Aprilia W. "Bioviabilitas Ekstrak Daun Mangrove (*Sonneratia alba*) terhadap Kultur Sel Fibroblas BHK-21". *Dent J Kedokt Gigi*. 2017:11(2),1–8.
 32. Sogandi S, Rabima R. "Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan Potensinya sebagai Antioksidan". *J Kim Sains dan Apl*. 2019:22(5):206–12.
 33. Balasundari T, Boominathan M. "Screening of Bioactive Compounds by GC-MS, Antimicrobial Activity and In Silico Studies in *Cynodon dactylon* L". *Pers Leaves. World J Sci Res*. 2018:3(1),7–15.
 34. Chusniasih D, Tutik. "Aktivitas Antikanker Ekstrak Aseton Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap Sel Vero dan MCF-7 Secara

- In Vitro". *J Anal Kesehat*. 2021;9(2),35–40.
35. Marantika A. "Efek Madu terhadap Gambaran Mikroskopik Ginjal yang Diinduksi Boraks. *J Major*". 2015;4(8),37–40.
 36. Nazir N, Zahoor M, Uddin F, Nisar M. Chemical Composition, "In Vitro Antioxidant, Anticholinesterase, and Antidiabetic Potential of Essential Oil of *Elaeagnus umbellata*". *BMC Complement Med Ther*. 2021;21(1),1–13.
 37. Nurhalimah S, Rahmawati SI, Hermanianto J, Nurjanah S, Izzati FN, Septiana E, et al. "Aktivitas Antioksidan dari Metabolit Sekunder Kapang Endofit Mangrove *Aegiceras corniculatum*". *Biopropal Ind*. 2021;12(1),51–61.
 38. Wardhani RRAAK, Akhyar O, Prasiska E. "Analisis Skrining Fitokimia, Kadar Total Fenol-Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Kayu Tanaman Galam Rawa Gambut (*Melaleuca cajuputi* Roxb.)". *Al-Ulum J Sains dan Teknol*. 2018;4(1),39–45.
 39. Lohvina H, Sándor M, Wink M. Effect of "Ethanol Solvents on Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Seed Extracts of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) Varieties and Determination of Phenolic Composition by HPLC-ESI-MS". *Diversity*. 2021;14(1),7.
 40. Zamzami ADRA, Isnaini I, Yasmina A. "Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Kulit Kayu dan Daun Galam dengan Metode BSLT". *Homeostasis*. 2021;4(1),43–8.
 41. Nitiprodjo AH, Kusumawinakhyu T. "Perbedaan Penurunan Suhu Tubuh Tikus Wistar Jantan dan Betina yang Mati Akibat Diinduksi Metanol". *Herb-Medicine J*. 2021;4(2),51–60.
 42. Utama TCM, Suharto G, Saebani S. "Pengaruh Pemberian Ranitidin terhadap Gambaran Histopatologi Paru Tikus Wistar pada Pemberian Metanol Dosis Bertingkat". *J Kedokt Diponegoro*. 2016;5(4),1794–803.
 43. Yudapratama AT, Novianry V, Effiana. "Uji Efektivitas Astaxanthin terhadap Kadar Glutation pada Jaringan Ginjal Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang diinduksi Formaldehid secara Oral". *J Cerebellum*. 2018;4(3),1120–6.