

DENTIN
JURNAL KEDOKTERAN GIGI
Vol V. No 3. Desember 2021

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK KULIT BATANG ULIN (*Eusideroxylon zwageri*)
 TERHADAP SEL FIBROBLAS BHK-21 SECARA *IN VITRO***

Ismi Natasya Salwa¹⁾, I Wayan Arya Krishnawan Firdaus²⁾, Aulia Azizah³⁾

¹⁾Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

²⁾Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin

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

ABSTRACT

Background: Antioxidants can come from plants that contain flavonoids such as ironwood. The bark of ironwood is declared effective to be used as a mouthwash because of the content of flavonoids, phenolics, tannins, saponins, alkaloids, and terpenoids. Ironwood bark extract to be used as an alternative material must be safe for oral tissues, so it is necessary to do a toxicity test. **Objective:** To analyze the toxic effect of ironwood bark extract through IC_{50} on BHK-21 fibroblast cells. **Methods:** This study was a pure laboratory experimental study with posttest-only control group design, consisting of 12 groups with 10 treatment groups given ironwood bark extract at concentrations of 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, and 95% and 2 control groups, namely cell control and media control. It was repeated 3 times so that the total sample was 36 samples. Toxicity test media used MTT assay which produced color absorbance and cell viability was calculated. **Results:** The results showed that the cell viability of the entire treatment group was $>60\%$ so it had no toxic effect. In addition, based on the $IC_{50} > 0.1\%$, which is 3.746%, it has no toxic effect on BHK-21 fibroblast cells. **Conclusion:** Ironwood bark extract at concentrations of 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, and 95% had no toxic effect on BHK-21 fibroblast cells.

Keywords: BHK-21 fibroblast cells, Ironwood bark extract, , toxicity

ABSTRAK

Latar Belakang: Antioksidan dapat berasal dari tanaman yang mengandung flavonoid seperti ulin. Kulit batang ulin dinyatakan efektif untuk dijadikan obat kumur karena adanya kandungan flavonoid, fenolik, tanin, saponin, alkaloid, dan terpenoid. Ekstrak kulit batang ulin untuk dijadikan sebagai bahan alternatif harus bersifat aman untuk jaringan rongga mulut sehingga perlu dilakukan uji toksisitas. **Tujuan:** Menganalisis efek toksik ekstrak kulit batang ulin melalui IC_{50} terhadap sel fibroblas BHK-21. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratoris murni dengan posttest-only with control group design, terdiri dari 12 kelompok dengan 10 kelompok perlakuan yang diberi ekstrak kulit batang ulin konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, dan 95% dan 2 kelompok kontrol, yaitu kontrol sel dan kontrol media. Dilakukan 3 kali pengulangan sehingga total sampel berjumlah 36 sampel. Media uji toksisitas menggunakan MTT assay yang menghasilkan absorbansi warna dan dilakukan perhitungan viabilitas sel. **Hasil:** Viabilitas sel seluruh kelompok perlakuan adalah $>60\%$ sehingga tidak memiliki efek toksik. Selain itu, berdasarkan nilai $IC_{50} > 0,1\%$ yaitu sebesar 3,746% tidak memiliki efek toksik terhadap sel fibroblas BHK-21. **Kesimpulan:** Ekstrak kulit batang ulin pada konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, dan 95% tidak memiliki efek toksik terhadap sel fibroblas BHK-21.

Kata kunci: Ekstrak kulit batang ulin, sel fibroblas BHK-21, toksisitas.

Korespondensi: Ismi Natasya Salwa, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Lambung Mangkurat, Jalan Veteran No. 128B, Banjarmasin, Kalimantan Selatan, email: isminatasyas@gmail.com

PENDAHULUAN

Antioksidan dapat bersumber dari endogen dan eksogen. Antioksidan eksogen dapat berasal dari flavonoid. Salah satu tanaman yang telah terbukti mengandung flavonoid adalah tanaman ulin. Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) adalah tanaman

khas Kalimantan yang merupakan sumber daya lahan basah. Berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan (PermenLHK) Nomor 106/2018, tanaman ulin dihapus dari daftar tanaman yang dilindungi. Menurut Sekretaris Dinas Kehutanan Kalimantan Selatan, tanaman ulin akan

dilakukan inventarisasi di kawasan Area Penggunaan Lain (APL). Berdasarkan Peraturan Menteri Kehutanan Nomor 50 Tahun 2009, APL merupakan sebuah kawasan hutan yang berubah fungsinya dan boleh digunakan untuk kegiatan ekonomi. Tanaman ulin memiliki beragam manfaat, salah satunya dapat digunakan sebagai bahan obat kumur untuk sakit gigi. Ulin juga dapat berfungsi sebagai antibakteri karena telah terbukti memiliki kemampuan bakteristatik dan bakterisidal. Senyawa yang terkandung pada kulit batang ulin adalah flavonoid, tanin, fenolik, saponin, alkaloid, dan terpenoid. Kandungan terbanyak pada ekstrak kulit batang ulin adalah fenolik, flavonoid, dan tanin. Senyawa flavonoid pada ekstrak kulit batang ulin adalah sebesar 30,48mg CE/g.^{1,2}

Ekstrak kulit batang ulin sebagai alternatif bahan herbal perlu diuji toksisitas demi keamanannya. Pengujian toksisitas dilakukan untuk mengevaluasi bahan kedokteran gigi sebelum digunakan manusia. Sel fibroblas *Baby Hamster Kidney-21* (BHK-21) merupakan kultur sel yang sangat sering digunakan dalam pengujian toksisitas karena mirip dengan kemampuan fibroblas manusia dalam menghasilkan *growth factor*. Kultur sel BHK-21 banyak digunakan karena bersifat stabil, non-mutagenik, mudah tumbuh, dan mudah dikultur. Metode yang paling umum digunakan adalah *Microculture Tetrazolium Technique Assay* (MTT Assay). Metode ini dapat mengukur sampel yang besar dengan waktu singkat, sensitif, dan akurat.^{3,4,5} Parameter untuk uji toksisitas adalah nilai IC₅₀ yang dapat menunjukkan tingkat toksisitas dari suatu senyawa.⁶

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang ulin (*Eusideroxylon zwageri*) tidak bersifat toksik terhadap sel fibroblas BHK-21 dengan menggunakan metode MTT assay.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dimulai dengan mendapatkan izin etik dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat No. 057/KEPKG-FKGULM/EC/III/2021. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental laboratoris murni dengan *post-test only with control group design*. Sampel terdiri dari 12 kelompok dengan 10 kelompok perlakuan, yaitu konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, dan 95%. 2 kelompok kontrol, yaitu kontrol sel dan kontrol media. Jumlah pengulangan untuk setiap perlakuan ditentukan dengan rumus *Federer* dan didapatkan hasil sebanyak 3 kali pengulangan sehingga total sampel adalah 36 sampel. Populasi penelitian ini adalah sel fibroblas BHK-21 yang dikembangkan pada media *Eagle's* di Laboratorium Pusat Veteriner Farma

(PUSVETMA) Surabaya. Kulit batang ulin yang digunakan telah dilakukan determinasi di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat, kemudian pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat.

Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Ulin

Ekstraksi kulit batang ulin menggunakan metode maserasi. Kulit batang ulin diambil sebanyak 1,5kg dibersihkan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 4 jam kemudian dibuat serbuk. Proses maserasi dilakukan dengan melakukan perendaman serbuk dengan etanol 96% selama 1x24 jam dan diulang 4 kali. Pelarut diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C selama 4-6 jam kemudian dipanaskan dengan *waterbath* sampai keseluruhan pelarut menguap sehingga diperoleh residu cairan berwarna kecoklatan sebanyak 11,25gr yang dibuat menjadi larutan induk 100% dengan mencampurkan ekstrak kulit batang ulin sebanyak 10g ditambahkan 10mL DMSO 10%. Uji bebas etanol dilakukan dengan menggunakan beberapa tetes kalium dikromat (K₂Cr₂O₇).

Ekstrak kulit batang ulin diencerkan menjadi beberapa konsentrasi dengan cara melarutkan sekian milliliter ekstrak kulit batang ulin dengan media *Eagle's* sehingga didapatkan konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, dan 95% yang dilakukan perhitungan dengan rumus sebagai berikut:

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

C1 = Konsentrasi awal (%)

V1 = Volume awal (ml)

C2 = Konsentrasi akhir (%)

V2 = Volume akhir (ml)

Preparasi Sel Fibroblas BHK-21

Sel fibroblas diperoleh dari kultur sel BHK-21 dalam bentuk *cell line* dengan media *Eagle's* dan FBS 10% ditanam dalam botol *flask/roux* kemudian diinkubasi dengan inkubator 37°C selama 48 jam. Pengembangbiakan dilakukan sampai sel fibroblas memenuhi dinding botol dengan kepadatan 2,4x10⁴ sel/mL. Setelah sel penuh, larutan media *Eagle's* dan FBS 10% dibuang pada botol *flask/roux* dan dicuci menggunakan PBS sebanyak 15mL diulangi sebanyak 3 kali. Ditambahkan *trypsin versene* 1mL agar sel terlepas dari dinding botol dan ikatan antar sel terpisah sehingga tidak menggumpal, hal ini dilakukan dengan menepuk botol sampai bersih kemudian sel dipindahkan ke dalam *microplate 96-well* sebanyak 100µL.

Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Batang Ulin

Sel fibroblas BHK-21 yang telah siap dalam *microplate 96-well* diberi perlakuan ekstrak kulit batang ulin sesuai konsentrasi sebanyak 100µL masing-masing sumuran. Inkubasi selama 24 jam menggunakan inkubator CO₂ kemudian sampel dibuang dan ditambahkan larutan media *Eagle's* dan FBS 10% sebanyak 100µL setelah itu dibuang kembali dan dicuci dengan PBS sebanyak 15mL diulangi 3 kali untuk membuang sisa serum. Ditambahkan *reagen* MTT sebanyak 10µL tiap sumuran kemudian diinkubasi kembali selama 4 jam menggunakan inkubator CO₂. Larutan MTT dibuang dan diberikan *stopper* DMSO sebanyak 50µL kemudian *microplate dishaker* selama 5-10 menit agar penghentian reaksi terjadi secara merata. *Microplate* dimasukkan ke dalam ELISA reader dengan panjang gelombang 620nm untuk melihat data absorbansi sebagai proses pembacaan viabilitas sel. Data absorbansi yang didapatkan dihitung persentase viabilitas sel menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{viabilitas} = \frac{(\text{ODP}-\text{ODM})}{(\text{ODKS}-\text{ODM})} \times 100\%$$

Keterangan:

% viabilitas : Persentase jumlah sel hidup setelah pengujian

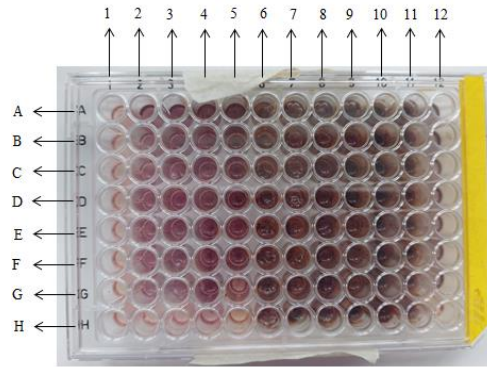
ODP : Nilai *optical density* pada semua perlakuan

ODM : Nilai *optical density* pada kontrol media

ODKS : Nilai *optical density* pada kontrol sel
Setelah didapatkan nilai persentase viabilitas sel, kemudian dilakukan perhitungan nilai IC₅₀ dengan analisis probit menggunakan perangkat lunak SPSS *for windows*.

HASIL

Berdasarkan hasil pewarnaan dengan MTT, pada konsentrasi rendah terlihat warna ungu yang lebih muda dan akan menjadi semakin pekat ketika konsentrasi ekstrak ditingkatkan. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah persentase sel fibroblas BHK-21 yang hidup pada konsentrasi rendah lebih sedikit dan terus meningkat pada konsentrasi tinggi sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit batang ulin maka semakin banyak sel fibroblas BHK-21 yang hidup.



Gambar 1. Kontrol media (1A-1H); Konsentrasi 5% (2A-2G); Konsentrasi 15% (3A-3G); Konsentrasi 25% (4A-4G); Konsentrasi 35% (5A-5G); Konsentrasi 45% (6A-6G); Konsentrasi 55% (7A-7G); Konsentrasi 65% (8A-8G); Konsentrasi 75% (9A-9G); Konsentrasi 85% (10A-10G); Konsentrasi 95% (11A-11G); Kontrol Sel (12A-12G); Kontrol sampel (2H-11H)

Tabel 1. Persentase Viabilitas Sel Fibroblas BHK-21

Konsentrasi	Viabilitas
5%	71,18%
15%	100%
25%	100%
35%	100%
45%	100%
55%	100%
65%	100%
75%	100%
85%	100%
95%	100%

Ekstrak suatu bahan dikatakan tidak toksik apabila hasil perhitungan dengan rumus viabilitas persentase sel hidup >60%. Berdasarkan hasil perhitungan viabilitas sel fibroblas BHK-21, ekstrak kulit batang ulin bersifat tidak toksik terhadap sel fibroblas BHK-21. Uji toksisitas dinilai berdasarkan persentase viabilitas sel dan nilai IC₅₀ yang diperoleh dari 3 pengulangan dan dianalisis menggunakan analisis probit menggunakan SPSS *for windows*. Suatu senyawa dianggap tidak toksik apabila nilai IC₅₀>0,1%.^{6,7} Didapatkan hasil nilai IC₅₀ adalah 3,746% dengan *lower bound* sebesar 2,486% dan *upper bound* sebesar 4,406% sehingga ekstrak kulit batang ulin konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, dan 95% tidak memiliki efek toksik terhadap sel fibroblas BHK-21.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak kulit batang ulin tidak memiliki efek toksik terhadap sel fibroblas BHK-21 karena menunjukkan persentase

viabilitas sel >60% dan nilai $IC_{50} > 0,1\%$. Viabilitas sel dinilai berdasarkan absorbansi warna reaksi enzimatis *reagen* MTT terhadap sel hidup yang akan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Reaksi ini dibentuk oleh enzim suksinat dihidrogenase yang berasal dari mitokondria sel hidup. Semakin besar konsentrasi ekstrak kulit batang ulin maka semakin pekat warna ungu yang dihasilkan sehingga viabilitas sel fibroblas BHK-21 juga tinggi pada ekstrak kulit batang ulin konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, dan 95%.^{8,9}

Ekstrak kulit batang ulin konsentrasi rendah menghasilkan warna ungu yang lebih muda dan menjadi semakin pekat jika konsentrasi ditingkatkan. Hal ini diakibatkan oleh semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit batang ulin maka semakin tinggi senyawa flavonoid sehingga semakin tinggi pula aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Pada penelitian ini, terjadi peningkatan viabilitas sel fibroblas BHK-21 setelah dipaparkan ekstrak kulit batang ulin karena adanya senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan.^{4,10,11}

Flavonoid merupakan kandungan senyawa pada ekstrak kulit batang ulin dengan kadar 30,48mg CE/g. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan bekerja dengan berbagai mekanisme, salah satunya dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen berupa Superoksida Dismutase (SOD), Katalase (CAT), dan Glutation Peroksidase (GPx). Pada kondisi fisiologi normal, faktor transkripsi *Nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2) di sitoplasma berikatan dengan protein negatif regulator *Kelch ECH associating protein 1* (Keap 1). Keap 1 akan mendeteksi adanya stres oksidatif melalui konjugasi redoks residu sistein dan Nrf2 akan teraktivasi sebagai bentuk pertahanan tubuh. Ikatan Nrf2 dan Keap 1 akan terlepas dan Nrf2 akan bertranslokasi menuju nukleus kemudian berikatan dengan sekuens regulator *Antioxidant Responsive Element* (ARE). Ikatan ini akan menginduksi sitoprotektif dan detoksifikasi gen kemudian dihasilkan enzim antioksidan endogen. Flavonoid juga bekerja dalam mengaktifkan Nrf2 yang telah terbukti secara *in vitro* sehingga terjadi peningkatan ekspresi gen antioksidan endogen.^{2,12,13}

Enzim antioksidan endogen berupa SOD, CAT, dan GPx berperan penting dalam menurunkan kadar radikal bebas atau ROS. SOD merupakan enzim yang ditemukan pada sitoplasma dan berfungsi dalam mengkatalisis anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2) sehingga mencegah terjadinya kerusakan sel akibat stres oksidatif. CAT adalah enzim yang terdapat terutama di mitokondria yang mengkatalisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi

air (H_2O) dan oksigen (O_2). GPx adalah enzim yang mengkatalisis reduksi dua molekul peroksida menggunakan glutation tereduksi (GSH) kemudian dihasilkan produk glutation teroksidasi (GSSG) dan air (H_2O). Enzim CAT dan GPx bersama-sama mengkatalisis H_2O_2 menjadi O_2 dan H_2O sehingga ROS dapat diturunkan oleh adanya senyawa flavonoid yang meningkatkan aktivitas enzim antioksidan.¹⁴

Flavonoid dapat melindungi sel dari stres oksidatif dengan cara memutus rantai reaksi yang dibentuk oleh radikal bebas dan ion logam transisi seperti Fe^{2+} dan Cu^+ . Ion logam tersebut akan berikatan dengan H_2O_2 yang dibentuk oleh enzim CAT dan GPx kemudian membentuk radikal hidroksil (OH^\cdot) yang bersifat sangat reaktif. Ion logam tersebut dapat dikhelat oleh flavonoid karena adanya satu gugus karboksil dan fenolik. Gugus tersebut akan bereaksi dengan ion logam sehingga terbentuk kompleks dengan sifat stabil dan terjadi penurunan kadar ROS.^{1,15,16}

Flavonoid berperan sebagai antioksidan melalui mekanisme donor ion hidrogen (H^+). Flavonoid memiliki cincin B yang berperan penting dalam aktivitas sebagai antioksidan yaitu sebagai *scavenger* radikal bebas. Hidroksil pada cincin B mampu mendonorkan ion hidrogen dengan cara donor elektron kepada radikal hidroksil dan peroksil kemudian menstabilkan kedua radikal tersebut, dan membentuk radikal yang bersifat lebih stabil.¹⁷

Flavonoid merupakan senyawa yang dapat menghambat banyak reaksi oksidasi, salah satunya adalah peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan perubahan susunan struktur membran sel. Peroksidasi lipid adalah proses dimana radikal bebas menghilangkan elektron dari lipid sehingga dihasilkan senyawa yang reaktif. Proses reaksi berantai dari peroksidasi lipid dapat menghancurkan DNA, protein, dan aktivitas enzim serta mengaktifkan sinyal yang menyebabkan kematian sel.¹⁸ Flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid dengan memecah rantai radikal peroksil sehingga terjadi penurunan kadar ROS dan terjadi peningkatan viabilitas sel karena adanya antioksidan.¹⁹

Antioksidan yang berasal dari komponen bioaktif metabolit sekunder umumnya tidak bekerja secara masing-masing. Senyawa tersebut bekerja dengan sinergis dan saling memperkuat senyawa bioaktif lain dalam melaksanakan fungsinya. Flavonoid dan fenol memiliki kemiripan struktur yaitu adanya gugus hidroksil yang menentukan kekuatan aktivitas antioksidan. Semakin meningkat jumlah gugus hidroksil maka aktivitas antioksidan juga meningkat. Fenol memiliki struktur molekul penting berupa dua atau lebih gugus hidroksil dan cincin aromatik yang berperan sebagai *scavenger*

radikal peroksil. Fenol juga mempunyai kemampuan menurunkan ROS dengan pembentukan *chelate* dengan ion logam transisi seperti Fe^{2+} dan Cu^+ . Antioksidan fenolik (ArOH) dapat mentransfer atom hidrogen untuk memutus reaksi inisiasi radikal bebas melalui mekanisme pembentukan kation radikal fenoksil ($Ar^{\bullet}OH^+$) yang akan cepat mengalami deprotonasi sehingga terbentuk radikal fenoksil (ArO^{\bullet}). Radikal fenoksil yang telah terbentuk dapat bergabung dengan radikal peroksil (ROO^{\bullet}) kemudian terbentuk produk yang bersifat non-radikal dan lebih stabil.^{1,20}

Parameter uji toksisitas pada penelitian ini adalah IC_{50} yang dapat menunjukkan tingkat toksisitas dari suatu senyawa. Semakin besar nilai IC_{50} maka semakin tidak toksik senyawa terhadap sel. Ketoksikan suatu bahan alam oleh Ballantyne dapat dikategorikan berdasarkan nilai IC_{50} . Apabila nilai IC_{50} lebih dari 0,1% maka dinyatakan tidak memiliki efek toksik.^{6,20} Penelitian ini telah dilakukan analisis menggunakan analisis probit dan didapatkan nilai IC_{50} untuk ekstrak kulit batang ulin adalah 3,746%.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit batang ulin pada konsentrasi 5%, 15%, 25%, 35%, 45%, 55%, 65%, 75%, 85%, dan 95% tidak memiliki efek toksik terhadap sel fibroblas BHK-21 dibuktikan dari persentase viabilitas sel >60% dan nilai IC_{50} >0,1% yaitu sebesar 3,746%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Yuslianti ER, 2018, "Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan", Yogyakarta, Deepublish, 45-85.
2. Mariam F, Firdaus IWAK, Panjaitan FUA, 2020, "Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Batang Pohon Kayu Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) Terhadap *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*", *DENTIN Jurnal Kedokteran Gigi*, 4(2), 43-48.
3. Charyadie AGT, Aprilia, Widyastuti, 2017, "Bioviabilitas Ekstrak Daun Mangrove (*Sonneratia alba*) Terhadap Kultur Sel Fibroblas BHK-21", *DENTA Jurnal Kedokteran Gigi*, 11(2), 1-8.
4. Fitriani F, Subiwahjudi A, Soetojo A, Yuanita T, 2019, "Sitotoksitas Ekstrak Kulit Kakao (*Theobroma cacao*) terhadap Kultur Sel Fibroblas BHK-21", *Conservative Dentistry Journal*, 9(1), 56.
5. Widjiastuti MWI, Febriastuti, 2020, "Biocompatibility of 0.78% Tanin of *Garcinia Mangostana* Linn Pericarp Extract and 0.2% Chlorhexidine Gluconate Against BHK-21 Fibroblast Cells Culture", *Conservative Dentistry Journal*, 10(1), 36-39.
6. Mardja TE, Rahmi F, Rusmawati E, Adriany R, Murtiningsih, Setijanti HB, dkk, 2016, Riset Sitotoksik Campuran Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L) dan Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L) pada Sel Vero dan AML12", *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3(4), 285.
7. Saputri MV, Carabelly AN, Firdaus IWAK, 2019, "Toxicity Test of The Mixed Mouthwash of Mauli Banana Stem and Basil Leaf Against Fibroblast Cell Study In Vitro", *DENTINO Jurnal Kedokteran Gigi*, 4(2), 151-155.
8. Pamungkas AR, Indrayudha P, 2019, "Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etanol-Air, Etil Asetat Serta N-Heksana Buah Pare (*Momordica charantia*) Pada Sel MCF-7 Secara In-Vitro", *Pharmacoin: Jurnal Farmasi Indonesia*, 16(2), 73-82.
9. Ma'arif B, Rosa N, Dianti MR, Firdausy AF, Laswati H, Agil M, 2020, "Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol 96% Daun Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) Pada Sel Hfob 1.19 dengan Metode Microtetrazolium (MTT) Assay", *FARMASIS: Jurnal Sains Farmasi*, 1(1), 26-32.
10. Wahyuni WT, Darusman LK, Rahmat A, 2018, "Analisis Kadar Flavonoid dan Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*), Rumput Mutiara (*Oldenlandia corymbosa*), dan Sirsak (*Annona muricata*) dengan Teknik Spektrometri", *Analytical and Environment Chemistry*, 3(1), 38-46.
11. Januarti IB, Taufiq H, Sulistyaningsih, 2019, "The Correlation of Total Flavonoid and Total Phenolic with Antioxidant Activity of Single Bulb Garlic (*Allium sativum*) from Tawangmangu and Magetan", *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 16(2), 96-103.
12. Zahra F, Budhiarta AAG, Pangkahila W, 2017, "Pemberian Ekstrak Daun Cincau (*Mesona palustris* BL) Oral Meningkatkan Jumlah Sel β Pankreas dan Menurunkan Gula Darah Puasa Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar Diabetes", *Jurnal e-Biomedik (eBM)*, 5(1), 1-6.
13. Mendonca P, Karam FA, Soliman, 2020, "Flavonoids Activation of the Transcription Factor Nrf2 as a Hypothesis Approach for the Prevention and Modulation of SARS-CoV-2 Infecion Severity", *Antioxidants*, 9(659), 2-28.

14. Diniz TC, Silva JC, Lima-Saraiva SRG, Ribeiro PRA, dkk, 2015, "The Role of Flavonoids on Oxidative Stress in Epilepsy", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1(1), 1-9.
15. Banjarnahor S, Artanti N, 2014, "Antioxidant Properties of Flavonoids", *Medical Journal Of Indonesia*, 23(4), 239–244.
16. Layal K, 2016, "Peran Nrf2 Dalam Patogenesis Stres Oksidatif dan Inflamasi Pada Penyakit Ginjal Kronik", *Jurnal Syifa Medika*, 7(1), 17–24.
17. Jabbar A, Wahyuni, Malaka MH, Apriliani, 2019, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah, Daun, Batang, dan Rimpang Pada Tanaman Wualae (*Etilingera elatior* (Jack) R.M Smith)", *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(2), 189-197.
18. Su LJ, Zhang JH, Gomez H, Murugan R, dkk, 2019, "Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1(1), 1-13.
19. Julianawati T, Hendarto H, Widjiati, 2020, "Penetapan Total Flavonoid, Aktivitas Antioksidan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn.)", *Jurnal Penelitian KESEHATAN Suara Forikes*, 11(1), 49-54.
20. Husnawati, Purwanto UMS, Rispriandari AA, 2020, "Perbedaan Bagian Tanaman Krokot (*Portulaca grandiflora* Hook.) Terhadap Kandungan Total Fenolik dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan", *Current Biochemistry*. 7(1), 10-20.