

Laporan Penelitian

**UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK METANOL BATANG PISANG MAULI (*Musa sp*)
 TERHADAP SEL FIBROBLAS BHK (*Baby Hamster Kidney*) 21**

Maharani Laillyza Apriasari¹, Rosihan Adhani², Diah Savitri³

¹Bagian Ilmu Penyakit Mulut Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

²Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin

³Bagian Ilmu Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

ABSTRAK

Latarbelakang : Salah satu obat tradisional yang sekarang sering digunakan oleh masyarakat adalah tanaman obat. Salah satu tanaman yang bisa dijadikan tanaman obat adalah pisang. Pisang mauli adalah pisang yang banyak tumbuh di Banjarmasin. Beberapa penelitian membuktikan batang pisang mauli mengandung saponin, alkaloid, lycopene, ascorbic acid, beta karoten, dan yang terbanyak didominasi tannin yang bersifat anti bakteri dan antijamur. **Tujuan** : untuk membuktikan uji sitotoksitas ekstrak metanol batang pisang pisang mauli dengan konsentrasi 25%, 80% dan 100% terhadap kultur sel fibroblas ginjal hamster (BHK 21). **Metode dan bahan** : penelitian eksperimental laboratoris dengan Post Test Only menggunakan 5 perlakuan..Sampel penelitian berupa kultur sel fibroblasBHK 21 sebanyak 5 kelompok yaitu yang diberi ekstrak metanol batang pisang mauli 25%, ekstrak metanol batang pisang mauli 80%, ekstrak metanol batang pisang mauli 100%, kontrol sel dan kontrol media. Tahapan penelitian meliputi tahapan split sel BHK dan tahapan perlakuan. Hasil pembacaan menggunakan Elisa Reader. Prosentase sel hidup menggunakan rumus Freshney). **Hasil penelitian** : ekstrak metanol batang pisang mauli konsentrasi 25% memiliki sel hidup 72%, konsentrasi 80% memiliki sel hidup 34%, dan konsentrasi mauli 100% memiliki sel hidup 29%. Analisis statistik oneway Anova menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap kelompok perlakuan. **Kesimpulan** : Ekstrak metanol batang pisang mauli dengan konsentrasi 25% tidak toksik terhadap sel fibroblas BHK 21

Kata kunci : Baby Hamster Kidney Fibroblast cells, Batang pisang mauli, Ekstrak metanol, Uji sitotoksitas

ABSTRACT

Background :Herbal medicine is one of the traditional drugs that almost be used by the people. One of herbal medicine is banana. Mauli banana is a lot of plants that growth in South Borneo. Some researches prove the mauli banana stem that contain saponin, alkaloid, lycopene, ascorbic acid, beta karoten, dan more tanin is having antibacterial and antifungal effect. **Purpose** : to prove cytotoxicity test of mauli banana stem metanol extract with 25%,80% and 100% concentrations were gived to fibroblast cel of baby hamster kidney (BHK 21). **Material and methods** : It was the experimental laboratoris with post test only using 5 treatments. The resaearch samples are cultur of fibroblast cells BHK 21 are devided by 5 groups that was giving by metanol extract 25% of mauli banana stem, metanol extract 80% of mauli banana stem, metanol extract 100% of mauli banana stem,cells control, and media control. The research steps are BHK cells split and treatment. The research result was using elisa reader. Procentase of life cells based on Freshney theory. **Research results** : methanol extract 25% of mauli banana stem was having 72% life cells, metanol extract 80% of mauli banana stem was having 34% life cells, and methanol extract 100% of mauli banana stem was having 29% life cells. The

statistic analyzes was using One Way Anova showed the difference between groups. Conclusion : Methanol extract 25% of mauli banana stem to BHK 21 fibroblast cells are not toxic

Keywords : *Baby Hamster Kidney Fibroblast cells, Cytotoxicity test, Mauli banana stem, Methanol extract*

PENDAHULUAN

Salah satu obat tradisional yang sekarang sering digunakan oleh masyarakat adalah tanaman obat. Tanaman obat adalah tanaman yang salah satu, beberapa atau seluruh bagiannya mengandung zat atau bahan aktif yang berkhasiat bagi kesehatan untuk penyembuhan penyakit. Pemakaian obat tradisional banyak diminati karena kurang menimbulkan efek samping seperti obat-obatan dari bahan kimia. Saat ini banyak penelitian dalam pengembangan obat tradisional yang dapat dijadikan sebagai obat alternatif, oleh karena bahannya mudah didapat dan harganya terjangkau. Salah satu tanaman yang bisa dijadikan tanaman obat adalah pisang.

Pisang mauli adalah pisang yang banyak tumbuh di Banjarmasin. Dari hasil data empiris, masyarakat daerah Hulu Sungai Utara Propinsi Kalimantan Selatan sering menggunakan batang pisang mauli untuk mempercepat penyembuhan luka pada kulit. Penelitian Apriasari dkk (2014) menunjukkan bahwa kandungan ekstrak batang pisang mauli terdiri atas saponin, alkaloid, lycopene, ascorbic acid, beta karoten, dan yang terbanyak didominasi tannin.¹

Ekstrak batang pisang mauli mengandung efek antiseptik dan antioksidan. Penelitian Apriasari dan Carabelly (2013) menunjukkan ekstrak metanol batang pisang mauli 80% mampu membunuh bakteri *Streptococcus mutans*, meskipun zona hambatnya tidak sebesar perlakuan dengan Povidone iodine 1%. Penelitian Apriasari (2014) menunjukkan ekstrak metanol batang pisang mauli 100% memiliki zona hambat antijamur lebih besar daripada ekstrak etanol batang pisang mauli 100% terhadap *Candida albicans*.^{2,3}

Bahan alam tersebut secara empiris di masyarakat tidak menimbulkan efek toksik, namun belum dilakukan penelitian secara ilmiah untuk membuktikan bahwa bahan alam tersebut tidak toksik. Hal ini yang menyebabkan perlu dilakukan uji sitotoksitas ekstrak metanol batang pisang mauli secara *in vitro* sebelum dilakukan penelitian pada hewan coba dan manusia. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan uji sitotoksitas ekstrak metanol batang pisang mauli dengan konsentrasi 25%, 80% dan 100% terhadap kultur sel fibroblas ginjal hamster (BHK 21).

METODE DAN BAHAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris murni dengan *Post Test Only* dengan rancangan acak

lengkap menggunakan 5 perlakuan. Jumlah minimal pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan adalah 5 kali dengan menggunakan rumus Federer. Sampel penelitian berupa kultur sel fibroblas ginjal hamster BHK 21 sebanyak 12 buah, dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I yang diberi ekstrak metanol batang pisang mauli 25%, kelompok II ekstrak metanol batang pisang mauli 80%, kelompok III ekstrak metanol batang pisang mauli 100%, kelompok IV adalah kontrol sel dan kel V adalah kontrol media.

Pembuatan ekstrak batang pisang mauli 100% dengan cara batang pisang mauli dibersihkan dan dikeringkan, selanjutnya diblender hingga halus. Tahapan berikutnya adalah metode pembuatan ekstraksi dengan maserasi. Prosesnya pada pelarut etanol yaitu memberikan etanol 70% dicampur dan diaduk, lalu diuapkan dengan rotary evaporator 40 derajat C, di waterbath, dan diberi larutan CMC-Na.

Apabila pelarut metanol, maka memberikan etanol 70% dicampur dan diaduk, lalu diuapkan dengan rotary evaporator 40 derajat C, di waterbath, dan diberi larutan CMC-Na memberikan metanol 70% dicampur dan diaduk, lalu diuapkan dengan rotary evaporator 40 derajat C, di waterbath, dan diberi larutan CMC-Na. Konsentrasi 80% didapatkan melalui pemberian aquades steril dengan perbandingan aquades : ekstrak batang pisang mauli = 20 : 80. Konsentrasi 25% didapatkan melalui pemberian aquades steril dengan perbandingan aquades : ekstrak batang pisang mauli = 75 : 25

Alat penelitian yang digunakan adalah *centrifuge*, *laminar flow*, botol ukur *Roux*, *microplate*, inkubator 37°C, 5% CO₂, *multichannel* pipet 25 µL, ujung pipet steril, vial 2 mL, pipet steril 5 mL dan 10 mL, mikroskop cahaya, *shaker*, dan *Elisa Reader*. Bahan penelitian yang digunakan adalah sel fibroblas dari BHK (*Baby Hamster Kidney*) 21, akuades steril, media *Eagles*, *fetal bovine* serum 10%, ekstrak metanol batang pisang mauli 25%, 80% dan 100%, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), *versene trypsin*, MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) dan DMSO (*dimethyl sulfoxide*).

Tahapan penelitian meliputi tahapan split sel BHK dan tahapan perlakuan. Tahapan split sel BHK yaitu mencairkan kultur sel induk (*seed cells*) yang sebelumnya telah dibekukan di dalam akuades steril suhu 37°C. Setelah cair, kemudian di-*centrifuge* 500 RPM selama 5 menit. Di dalam *laminar flow*, membuang supernatan yang ada sehingga tersisa endapan sel di dasar. Endapan sel

tersebut diambil dan disuspensikan dengan media *Eagles* dan *fetal biovine* serum 10%.Selanjutnya ditambahkan media *Eagles* sebanyak 36 mL ke dalam botol yang berisi serum 4 mL sehingga didapat hasil akhir 40 mL media *Eagles* + serum.Endapan sel yang telah disuspensikan ditanam di botol *Roux* steril, lalu diinkubasi 37°C, 5% CO₂ sampai sel monolayer terbentuk (\pm 2 hari, dilihat dengan mikroskop).Botol *Roux* besar yang berisi sel BHK tersebut, kemudian medianya dibuang dan dicuci dengan PBS 15 mL sebanyak 3-5 kali. Botol *Roux* diisi dengan *versene trypsin* 1 mL.Sel-sel dalam botol tersebut akan terlihat menggerombol kemudian dihomogenisasikan dengan media *Eagles* sebanyak 10 mL.Sel yang telah homogen dimasukkan ke dalam *microplate* 40well dengan kepadatan 2×10^5 sel/mL.Diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator 37°C, 5% CO₂.

Tahap perlakuan meliputi pengamatan pada *microplate* yang berisi sel fibroblas yang telah diinkubasi di bawah mikroskop cahaya, apakah sel fibroblas yang telah ditanam dalam setiap *well* telah cukup banyak untuk dibuat perlakuan.Setiap perlakuan mempunyai 8 well. Tiap perlakuan yaitu ekstrak batang pisang mauli diteteskan pada 8 well dengan pelarut metanol konsentrasi 25%, 80% dan 100%, sedangkan 2 well untuk kontrol sel tidak dilakukan penetesan dan kontrol media. Setiap well ditetesi sebanyak 50 μ L dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator 37°C, 5% CO₂.

Data hasil penelitian berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap sel fibroblas setelah penetesan ekstrak metanol batang pisang mauli konsentrasi 25%, 80%, 100%, kontrol sel dan kontrol media. Hasil pembacaan dengan menggunakan *Elisa Reader* yaitu berupa tingkat absorbansi atau *optical density*. Semakin tinggi angka *optical density*, menunjukkan jumlah sel fibroblas yang hidup semakin banyak pula. Presentase sel hidup menggunakan rumus Freshney (2000)

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

OD kontrol sel + OD media

Keterangan:

% sel hidup : persentase jumlah sel hidup setelah pengujian

OD perlakuan : nilai optical density fibroblas pada setiap sampel setelah pengujian hasil pembacaan dengan *Elisa Reader*

OD media : nilai optical density fibroblas pada media kontrol

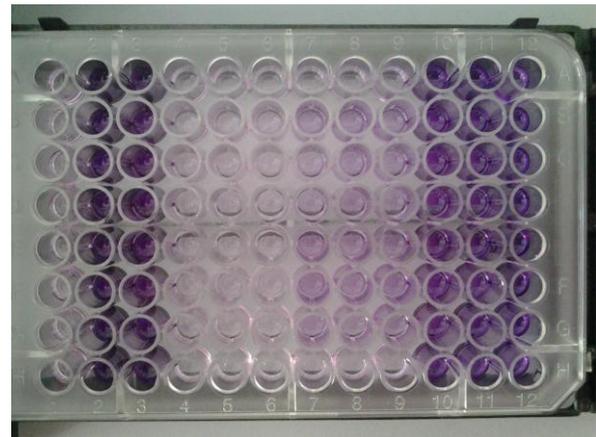
OD kontrol sel : nilai optical density fibroblas pada sel kontrol

Hasil perhitungan dikatakan tidak toksik bila ≥ 60 % sel hidup.

Data yang sudah dikumpulkan diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-Wilk*. Jika data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) maka data akan dianalisis dengan analisis parametrik *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% dilanjutkan uji LSD. Jika data yang diperoleh terdistribusi normal tapi tidak homogen atau terdistribusi tidak normal tapi homogen dilakukan uji analisis non-parametrik secara *Mann-Whitney*.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian tentang uji toksisitas ekstrak metanol batang pisang mauli pada sel BHK 21 ini menggunakan rumus Freshney (2000), dengan hasil pada ekstrak metanol batang pisang mauli konsentrasi 25% memiliki sel hidup 72%, ekstrak metanol batang pisang mauli 80% memiliki sel hidup 34%, dan ekstrak metanol batang pisang mauli 100% memiliki sel hidup 29%. Hasil perhitungan dinyatakan tidak toksik bila $\geq 60\%$, oleh sebab itu yang tidak toksik adalah ekstrak metanol batang pisang mauli dengan konsentrasi 25%. Hal ini ditunjukkan dengan gambar 1.



Gambar 1. Hasil kultur sel BHK21 dg perlakuan ekstrak metanol batang pisang mauli

Data ditabulasi dan dilakukan uji normalitas dengan menunjukkan normal dan uji homogenitas menunjukkan homogen, sehingga menggunakan uji parametrik oneway anova dengan tingkat kepercayaan 95% seperti tabel 1. Hal ini menunjukkan bahwa H₀ ditolak, yaitu terdapat perbedaan bermakna pada masing-masing kelompok.

perlakuan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,764	4	,191	43,035	,000
Within Groups	,155	35	,004		
Total	,919	39			

Tabel 1. One Way Anova

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak metanol batang pisang mauli tidak toksik terhadap sel fibroblas yang merupakan sel pembentuk sabut jaringan ikat terbanyak pada tubuh makhluk hidup. Jika terbukti bahwa getah tersebut tidak toksik, maka dapat dilanjutkan dengan penelitian pada hewan coba dan manusia. Penelitian ini adalah uji pendahuluan, yaitu uji toksisitas dari bahan secara *in vitro* yang dikontakkan secara langsung pada kultur sel atau jaringan. Uji ini paling cepat. Uji sitotoksitas dapat dilakukan dengan menggunakan hewan coba secara *in vivo* atau menggunakan kultur sel secara *in vitro*.⁴

Menurut Freshney, metode yang sering digunakan adalah metode *in vitro* dengan menggunakan kultur sel. Prinsip dasar menumbuhkan sel secara *in vitro* adalah merancang sistem kultur agar menyerupai keadaan *in vivo*. Sel yang akan diteliti dipindah dari jaringan asalnya, kemudian ditempatkan dalam wadah kultur untuk mendapatkan tempat pertumbuhan dan nutrisi yang cukup pada temperatur 37°C dan lingkungan gas (95% CO₂/ 95% udara) pada pH 7,4-7,7. Penelitian ini menggunakan kultur sel BHK-21 yang berasal dari fibroblas ginjal hamster oleh karena sel BHK-21 lebih banyak digunakan untuk menguji sitotoksitas bahan dan obat-obatan di kedokteran gigi.^{4,5}

Pengukuran dari hasil produk pewarnaan menggunakan bantuan dari alat spektrofotometri. Makin pekat warna yang dihasilkan makin tinggi nilai absorbansinya berarti makin banyak jumlah selnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol batang pisang mauli pada konsentrasi 25% tidak menimbulkan efek toksik terhadap sel fibroblas, sedangkan ekstrak metanol batang pisang mauli pada konsentrasi 80% dan 100% terbukti toksik. Hal ini dibuktikan dengan persentase jumlah sel yang hidup pada konsentrasi 25% adalah lebih dari 60%. Jika persentase jumlah sel yang hidup kurang dari 60%, maka bahan tersebut toksik.^{5,6}

Pemilihan metanol 70% sebagai pelarut diharapkan dapat menarik zat-zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia. Ekstrak metanol merupakan ekstrak yang kandungan senyawanya masih beragam, dari yang non polar sampai yang polar. Senyawa yang dapat masuk sari metanol

diantaranya adalah flavonoid, terpenoid dan lipid. Berdasarkan kandungan yang ada flavonoid merupakan senyawa polifenol yang banyak terkait dengan efek antioksidan dan kemoprotektif dan sitotoksik melalui mekanisme *cell cycle arrest*. Adanya senyawa non polar dapat mengakibatkan gangguan pada proses penarikan flavonoid karena tidak adanya proses *defatting*. Selain menyebabkan penurunan kadar senyawa lain yang ada dimungkinkan dapat menyebabkan penurunan aktivitas dari flavonoid. Adanya aktivitas sitotoksik pada ekstrak metanol 70% kemungkinan disebabkan karena dalam ekstrak tersebut terdapat beragam senyawa baik yang bersifat polar, semi polar maupun non-polar sehingga efek toksiknya saling mempengaruhi. (Djajanegara dan Wahyudi, 2009 ; Puspitasari dan Ulfa, 2009) Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol batang pisang mauli tidak bersifat toksik pada sel fibroblas BHK 21 dengan konsentrasi 25%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Apriasari M.L, Carabelly A.N, 2013. *Uji Efektivitas Ekstrak Metanol Batang Pisang Mauli (Musa sp) 80% dan Povidone iodine 1% Terhadap Streptococcus mutans*. Dipresentasikan dalam seminar internasional Dentisphere 7-8 Nopember 2013, Hotel Shangrilla, Surabaya, Indonesia.
2. Apriasari M.L, Suhartono E, 2014. *Kandungan Ekstrak Metanol Batang Pisang Mauli (Musa sp) 100%*. Dipresentasikan pada seminar ICBBB, Melbourne, Australia 4-5 Januari 2014.
3. Apriasari M.L, 2014. *Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol dan Metanol Batang Pisang Mauli 100%*. Dipresentasikan pada Seminar IPAMAGI, Hotel Bumi, Surabaya 25-26 April 2014
4. Ariani W, 2012. *Uji Sitotoksitas Getah Bonggol Pisang Ambon Terhadap Sel Fibroblas*. Skripsi Universitas Airlangga Surabaya.
5. Freshney RI. 2000. *Culture of animals cell: a manual of basic technique*. 4th Ed. Newyork: Wiley Liss Inc. p. 329-43
6. Fazwishni S dan Hadijono BS. 2000. *Uji sitotoksitas dengan esei MTT*. Jurnal

- Kedokteran Gigi Universitas Indonesia;
7(Edisi Khusus). p. 28-32
7. Puspitasari E, Ulfa E.U. *Uji Sitotoksitas Ekstrak Metanol Buah Buni Terhadap Sel Hela*. Jurnal Ilmu Dasar, Vol 10 No 2, Juli 2009 : 181-185
 8. Djajanegara I, Wahyudi P. *Pemakaian Sel Hela Dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun Annona squamosa*. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol 7 No 1, April 2009, hal 7-11