**JOFE : Journal of Food Engineering** | E-ISSN. 2810-0824
Vol. 5 No. 3 Juli 2026

*Hal. 146-156*

# Evaluasi Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Rumput Kebar (*Biophytum umbraculum* Welw.) terhadap Sel Vero secara In Vitro

*Evaluation of Cytotoxicity of Biophytum umbraculum Welw. Ethanol Extract Against Vero Cells In Vitro*

**Erni Rustiani[1*], Dinni Khoerunnisa[1], Oktaviana Zunnita[1]**

[1]Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan

*Email Koresponden: ernirustiani@unpak.ac.id

**Received : 10 Oktober 2025 | Accepted : 19 Juli 2026 | Published : 21 Juli 2026**

**Kata Kunci**

*Biophytum umbraculum*, sitotoksisitas, uji MTT

**Copyright** (c) 2026 Authors Erni Rustiani, Dinni Khoerunnisa, Oktaviana Zunnita

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

**ABSTRAK**

Rumput kebar (*Biophytum umbraculum* Welw., sinonim *Biophytum petersianum*) merupakan tanaman obat tradisional asal Papua yang secara turun-temurun dimanfaatkan masyarakat untuk meningkatkan kesuburan wanita dan diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder, seperti flavonoid, senyawa fenolik, tanin, dan steroid, yang memiliki beragam aktivitas biologis. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi sitotoksisitas ekstrak etanol rumput kebar terhadap sel Vero sebagai model sel normal secara *in vitro* menggunakan metode MTT (*methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide*) serta menentukan nilai $CC_{50}$ (*Cytotoxic Concentration* 50%) melalui analisis regresi linier. Sel Vero dipaparkan ekstrak pada 17 tingkat konsentrasi (248–3974 ppm) selama 48 jam dengan tiga kali pengulangan pada setiap konsentrasi, kemudian persentase viabilitas sel ditentukan berdasarkan nilai absorbansi hasil pembentukan kristal formazan pada panjang gelombang 595 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas sel Vero menurun secara konsisten seiring peningkatan konsentrasi ekstrak, menunjukkan pola efek sitotoksik yang bergantung pada konsentrasi (*concentration-dependent*). Pada konsentrasi terendah, yaitu 248 ppm (setara 107,13 mg/200 g BB tikus), viabilitas sel mencapai 101,82%, sehingga ekstrak dikategorikan tidak toksik. Sebaliknya, pada konsentrasi ≥993 ppm (setara 428,97–1716,76 mg/200 g BB tikus), viabilitas sel menurun tajam hingga di bawah 50%,mengindikasikan sifat sangat toksik terhadap sel normal. Analisis regresi linier antara logaritma basis 10 konsentrasi dan persentase viabilitas menghasilkan persamaan $Y = 278{,}712 - 79{,}291X$ yang signifikan secara statistik ($F = 73{,}625$; $p < 0{,}001$; $R^2 = 0{,}831$), dengan nilai $CC_{50}$ sebesar 766,41 ppm, setara 331,09 mg/200 g BB tikus. Temuan ini menegaskan bahwa ekstrak etanol rumput

kebar bersifat aman pada dosis rendah namun berpotensi toksik pada dosis tinggi, sehingga dapat dijadikan acuan ilmiah dalam penentuan rentang dosis aman untuk pengujian toksisitas subkronis secara *in vivo* pada tahap penelitian selanjutnya.

***Keywords***

*Biophytum umbraculum, cytotoxicity, MTT assay*

***ABSTRACT***

*Kebar grass* (*Biophytum umbraculum Welw., synonym Biophytum petersianum*) *is a traditional medicinal plant from Papua, Indonesia, long used by local communities to enhance female fertility and known to contain various secondary metabolites such as flavonoids, phenolic compounds, tannins, and steroids with diverse biological activities. This study aimed to evaluate the cytotoxicity of kebar grass ethanol extract against Vero cells as a normal cell model in vitro using the MTT* (*methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide*) *assay and to determine the* $CC_{50}$ *(Cytotoxic Concentration 50%) value through linear regression analysis.Vero cells were exposed to the extract at 17 concentration levels (248–3974 ppm) for 48 hours, with triplicate testing at each concentration, and cell viability was determined based on absorbance values from formazan crystal formation at 595 nm. The results showed that Vero cell viability decreased consistently with increasing extract concentration, reflecting a concentration-dependent cytotoxic pattern. At the lowest concentration, 248 ppm (equivalent to 107.13 mg/200 g body weight of rats), cell viability reached 101.82%, categorizing the extract as non-toxic.In contrast, at concentrations ≥993 ppm (equivalent to 428.97–1716.76 mg/200 g body weight), viability dropped sharply below 50%, indicating high toxicity toward normal cells. Linear regression analysis between* $log_{10}$ *concentration and viability percentage yielded the equation* $Y = 278.712 - 79.291X$*, which was statistically significant (*$F = 73.625$; $p < 0.001$; $R^2 = 0.831$*), with a* $CC_{50}$ *value of 766.41 ppm, equivalent to 331.09 mg/200 g body weight of rats. These findings confirm that kebar grass ethanol extract is safe at low doses but potentially toxic at high doses, providing a scientific basis for determining safe dose ranges in subsequent in vivo subchronic toxicity testing.*

## 1. PENDAHULUAN

Tanaman obat telah lama menjadi alternatif pengobatan yang digunakan oleh masyarakat Indonesia. Salah satu tanaman yang potensial adalah rumput kebar (*Biophytum umbraculum* Welw., sin. *Biophytum petersianum*), merupakan tanaman herba yang tumbuh secara liar dan dapat ditemukan di Papua, Jawa Barat, dan Jawa Tengah. Rumput kebar memiliki nama lokal "banondit" dalam bahasa Papua berarti " banyak anak" (Bakri *et al*., 2025). Secara turun temurun, masyarakat Papua memanfaatkan air rebusan rumput kebar untuk meningkatkan kesuburan wanita, sehingga tanaman ini dikenal sebagai obat tradisional yang memiliki kaitan erat dengan kesehatan reproduksi (Bakri *et al*., 2025). Kandungan metabolit sekunder dalam

rumput kebar yaitu flavonoid dan fenolik berperan penting sebagai antioksidan alami dalam sistem biologi (Kumar & Pandey, 2013). Senyawa fenolik merupakan kelompok metabolit sekunder terbesar dengan aktivitas farmakologis yang luas, antara lain sebagai antioksidan, anti-inflamasi, anti-karsinogenik, bakterisida, hingga perlindungan terhadap stres oksidatif (Mahardani & Yuanita, 2021).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan A, Nurcahyanti et al., (2019) menunjukkan bahwa ekstrak rumput kebar memiliki aktivitas sitotoksisitas terhadap beberapa garis sel kanker, termasuk sel leukemia (CCRF-CEM, CEM/ADR5000), sel kanker serviks (*HeLa*), sel karsinoma pankreas (MiaPaCa-2), dan sel kanker payudara (MCF-7). Data mengenai efek sitotoksisitas ekstrak rumput kebar terhadap sel normal masih terbatas, terutama menggunakan model sel Vero. Pemilihan sel Vero sebagai model sel normal didasarkan pada penggunaannya yang telah direkomendasikan untuk skrining toksisitas bahan uji secara *in vitro*, sehingga dimanfaatkan dalam evaluasi awal keamanan suatu senyawa uji (Fernandez *et al*., 2005). Dalam penelitian toksikologi seluler, sel Vero yang berasal dari ginjal kera Afrika (*Cercopithecus aethiops*) banyak digunakan karena memiliki kesamaan homolog dengan sel manusia dan karakteristik kultur yang stabil (Ammerman *et al.*, 2009).

Dengan demikian penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek sitotoksisitas ekstrak rumput kebar terhadap sel Vero menggunakan metode MTT *assay*. Hasil penelitian diharapkan memberikan informasi ilmiah mengenai tingkat keamanan ekstrak rumput kebar, sekaligus menjadi dasar pemanfaatannya secara luas dalam pengembangan produk obat herbal, suplemen kesehatan maupun pangan fungsional.

## 2. METODE

### 2.1 Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstrak etanol rumput kebar (*Biophytum umbraculum* Welw.), simplisia rumput kebar yang berasal dari Papua Barat, etanol 96% sebagai pelarut ekstraksi, media kultur sel *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, kultur sel Vero, $NaHCO_3$, larutan *Phosphate Buffered Saline* (PBS), larutan tripsin-EDTA, larutan pewarna tripan biru (*Trypan Blue*), reagen MTT [*3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida*], antibiotik penisilin-streptomisin.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi inkubator $CO_2$, mikropipet, mikrotiter plate 96 sumur, mikroskop inverted, spektrofotometer mikroplate pada panjang gelombang 595 nm, oven, ayakan mesh 40, *rotary evaporator*, *vacuum dryer*, timbangan analitik, serta seperangkat alat gelas laboratorium.

### 2.2 Preparasi Ekstrak Rumput Kebar

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini merupakan ekstrak etanol rumput kebar. Bahan tanaman diperoleh dari wilayah Papua Barat dan telah dilakukan identifikasi botani (determinasi) di Herbarium Bogoriense, Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong. Hasil teridentifikasi dengan nama latin yaitu *Biophytum umbraculum* Welw.

Tanaman dibersihkan dari kotoran, dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C hingga diperoleh simplisia kering. Simplisia selanjutnya dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan mesh 40. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan simplisia terhadap pelarut sebesar 1:10 (b/v). Maserasi dilakukan selama 3 × 24 jam dalam wadah tertutup,

kemudian filtrat dipisahkan melalui penyaringan dan diuapkan menggunakan *vacuum dryer* hingga diperoleh ekstrak etanol kering yang selanjutnya digunakan sebagai bahan uji sitotoksisitas.

## 2.3 Uji Sitotoksisitas

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vitro* yang bertujuan untuk mengevaluasi efek sitotoksisitas ekstrak rumput kebar terhadap sel Vero menggunakan metode MTT *assay*. Desain rancangan adalah *post-test only control group design*, dengan perlakuan berupa pemberian berbagai konsentrasi ekstrak pada kultur normal dan pembanding kontrol negatif (tanpa ekstrak) (Vijayarathna & Sasidharan, 2012). Penelitian ini menggunakan kontrol negatif berupa sel Vero tanpa pemberian ekstrak sebagai kelompok pembanding. Kontrol positif tidak disertakan dikarenakan tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi efek sitotoksisitas ekstrak rumput kebar terhadap viabilitas sel Vero berdasarkan perbandingan dengan kondisi kontrol negatif.

Pada penelitian ini, parameter yang digunakan untuk menentukan tingkat sitotoksisitas ekstrak etanol rumput kebar (*Biophytum umbraculum* Welw.) terhadap sel Vero adalah nilai 50% *cytotoxic concentration* ($CC_{50}$). Nilai $CC_{50}$ merupakan konsentrasi bahan uji yang menyebabkan penurunan viabilitas sel sebesar 50% dibandingkan dengan kontrol, sehingga digunakan untuk menggambarkan potensi sitotoksisitas suatu bahan terhadap sel uji (Riss et al., 2016). Sementara itu, nilai 50% *inhibitory concentration* ($IC_{50}$) merupakan konsentrasi suatu senyawa yang menghasilkan penghambatan sebesar 50% terhadap aktivitas atau respons biologis tertentu yang diamati (IUPAC, 2025).

Pemilihan $CC_{50}$ didasarkan pada tujuan penelitian, yaitu mengevaluasi efek toksik ekstrak terhadap viabilitas sel Vero sebagai model sel non-kanker secara *in vitro*. Melalui metode MTT (*methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide*), sitotoksisitas ditentukan berdasarkan kemampuan sel hidup dalam mereduksi garam tetrazolium menjadi kristal formazan yang mencerminkan aktivitas metabolik dan viabilitas sel. Oleh karena itu, $CC_{50}$ lebih sesuai digunakan pada penelitian ini karena menggambarkan konsentrasi ekstrak yang memberikan efek sitotoksik terhadap kelangsungan hidup sel Vero, bukan mengevaluasi aktivitas penghambatan terhadap suatu target biologis tertentu.

### *2.3.1 Kultur dan perlakuan sel Vero*

Sel Vero dikultur dalam DMEM+FBS 5-10% dan antibiotik, diinkubasi pada suhu 37°C dengan 5% $CO_2$ dalam *incubator* hingga mencapai 80% *confluent* (Lee et al., 2020). Suspensi sel dibuat dengan trypsin-EDTA, kemudian disuspensikan kembali kedalam medium DMEM. Jumlah sel dihitung menggunakan hemositometer (Neubauer chamber), jumlah sel hidup dihitung pada empat kotak hemositometer, kemudian konsentrasi sel ditentukan menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah sel (sel/mL)} = \text{Rata-rata jumlah sel x faktor pengenceran x } 10^4$$

Kemudian, dipipetkan ke dalam 96-*well plate* sebanyak 100 µL per sumur ($1\times10^4$ sel/*well*). Sel Vero diinkubasi selama 24 jam hingga menempel. Sel Vero tersebut akan tumbuh sebagai lapisan tunggal hingga mencapai konfluensi yaitu menempati seluruh permukaan permukaan wadah kultur jaringan, membentuk lapisan yang padat dan saling menempel, sehingga tidak ada lagi ruang kosong antar sel, yang ditandai dengan 80% hingga 100% area tertutup.

*2.3.2 Uji sitotoksisitas metode MTT assay*

Setelah sel pada *microplate* diinkubasi, sel Vero dicek di bawah mikroskop. Kemudian, media cair pada *well* dibuang dan digantikan dengan ditambahkannya larutan ekstrak sebanyak 100 µL pada setiap *well*-nya sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan [248, 496, 745, 993, 1214, 1490, 1738, 1987, 2207, 2428, 2649, 2870, 3090, 3311, 3532, 3753, 3974] dalam satuan ppm. Rentang konsentrasi ekstrak sebesar 248–3974 ppm dipilih untuk memperoleh kurva hubungan konsentrasi–respons (dose–response relationship) yang memadai terhadap viabilitas sel Vero. Penggunaan rentang konsentrasi yang luas pada uji sitotoksisitas metode MTT diperlukan untuk mengidentifikasi perubahan viabilitas sel secara bertahap dan memungkinkan penentuan nilai 50% *Cytotoxic Concentration* ($CC_{50}$) sebagai parameter sitotoksisitas ekstrak. Rentang konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan konsentrasi ekstrak hingga 4000 µg/mL pada sel Vero untuk evaluasi sitotoksisitas menggunakan metode MTT (Mosmann, 1983; Freshney, 2016; Dwidhanti *et al.*, 2018).

Media baru ditambahkan sebanyak 100 µL ke dalam *well* yang berisi sel Vero tanpa dipaparkan ekstrak. setiap konsentrasi ekstrak serta kontrol negatif dilakukan dalam tiga kali pengulangan (*triplicate*) pada sumuran (*well*) yang berbeda dalam satu *microplate*. Selanjutnya, *microplate* diinkubasi selama 48 jam pada temperatur 37℃.

Sebanyak 10 µL reagen MTT ditambahkan ke dalam setiap *well*, kemudian *microplate* diinkubasi kembali selama 4 jam pada suhu 37°C agar garam tetrazolium (MTT) direduksi oleh sel yang masih hidup menjadi kristal formazan. Setelah inkubasi, ke dalam setiap *well* ditambahkan etanol pro analis 99% (etanol absolut) untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk sehingga dapat dilakukan pembacaan absorbansi. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Setiap konsentrasi ekstrak dan kontrol diuji dalam tiga ulangan (*triplicate*, n = 3). Nilai absorbansi diperoleh dari tiga *well* independen (OD I, OD II, dan OD III), kemudian digunakan untuk menghitung persentase inhibisi dan viabilitas sel. Nilai yang disajikan merupakan rata-rata dari ketiga ulangan tersebut dan digunakan untuk analisis sitotoksisitas serta penentuan nilai $CC_{50}$.

## 2.4 Data dan Analisis Statistik

Viabilitas sel dihitung dengan membandingkan absorbansi perlakuan dan kontrol negatif, kemudian dinyatakan dalam persen viabilitas. Perhitungan viabilitas dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{absorbansi\ sampel}{absorbansi\ kontrol} x\ 100\%$$

Nilai CC50 (*Cytotoxic Concentration* 50%) ditentukan menggunakan analisis regresi linier antara logaritma basis 10 (log10) konsentrasi ekstrak sebagai variabel bebas (X) dan persentase viabilitas sel sebagai variabel terikat (Y). Analisis regresi dilakukan menggunakan perangkat lunak IBM SPSS *Statistics* versi 25. Persamaan regresi yang diperoleh digunakan untuk menentukan nilai CC50 dengan mensubstitusikan nilai viabilitas sel sebesar 50%, kemudian nilai log konsentrasi yang diperoleh dikonversi kembali ke satuan konsentrasi (ppm) menggunakan antilog ($10^x$). Perhitungan CC50 dihitung menggunakan rumus :

$$X = \frac{50 - \mathrm{a}}{b}$$

## 3 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Uji Stotoksisitas Ekstrak Rumput Kebar Metode MTT

Uji MTT (*Microtetrazolium*) merupakan metode yang digunakan untuk mengukur viabilitas sel, dalam hal ini "sel Vero" , setelah dipaparkan ekstrak rumput kebar selama 48 jam. Sel Vero yang masih hidup akan mereduksi reagen MTT menjadi kristal formazan berwarna ungu melalui aktivitas enzim mitokondria. Intensitas warna yang dihasilkan kemudian diukur sebagai nilai absorbansi atau *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 595 nm. Nilai absorbansi tersebut linier dengan jumlah sel yang masih hidup, sehingga semakin rendah OD menandakan semakin banyak sel yang mengalami kematian akibat paparan ekstrak (Rollando, 2016).

Nilai 0,00% inhibisi pada kelompok kontrol menunjukkan bahwa tidak terjadi penghambatan terhadap viabilitas sel karena kelompok tersebut tidak mendapatkan perlakuan berupa senyawa uji. Nilai absorbansi kelompok kontrol digunakan sebagai acuan yang merepresentasikan 100% viabilitas sel dalam perhitungan persentase inhibisi (ISO 10993-5:2021; Riss et al., 2016). Berdasarkan prinsip perhitungan persentase inhibisi, apabila nilai absorbansi sampel sama dengan nilai absorbansi kontrol, maka persentase inhibisi yang dihasilkan adalah 0,00%, yang mengindikasikan tidak adanya efek sitotoksik terhadap sel. Penurunan nilai absorbansi pada kelompok perlakuan menunjukkan berkurangnya jumlah sel yang masih aktif secara metabolik dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini disebabkan karena persentase inhibisi dihitung berdasarkan perbandingan nilai absorbansi sampel terhadap kontrol, penurunan absorbansi tersebut menghasilkan peningkatan persentase inhibisi yang mencerminkan meningkatnya efek sitotoksik senyawa uji terhadap viabilitas sel (Riss et al., 2016; Ghasemi et al., 2021). Pada penelitian ini, nilai absorbansi pada konsentrasi 248 ppm sedikit lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol sehingga menghasilkan persentase inhibisi negatif. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut tidak terjadi penghambatan terhadap viabilitas sel. Perbedaan absorbansi yang relatif kecil tersebut diduga berkaitan dengan variasi biologis maupun variasi teknis selama pengujian, seperti perbedaan jumlah sel awal, proses pipet, atau pembacaan absorbansi.

Pada tabel 1 merupakan hasil pengujian MTT di masing-masing konsentrasi.

**Tabel 1.** Hasil uji MTT

| Dosis Ekstrak Rumput Kebar | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Dosis Kera mg/Kg BB** | **Dosis Kera ppm** | **Dosis tikus mg/200 g BB** | **Rata-Rata %Inhibisi** | **Rata-Rata %Viabilitas** | **Nilai SD** |
| 248 | 248 | 107,13 | -1,82 | 101,818 | 1,744 |
| 496 | 496 | 241,27 | 16,46 | 62,866 | 4,016 |
| 745 | 745 | 321,84 | 47,75 | 52,245 | 15,678 |
| 993 | 993 | 428,97 | 71,19 | 28,81 | 2,508 |
| 1214 | 1214 | 524,44 | 88,56 | 11,438 | 1,486 |
| 1490 | 1490 | 643,68 | 92,78 | 7,083 | 1,804 |
| 1738 | 1738 | 750,81 | 82,22 | 17,779 | 22,868 |
| 1987 | 1987 | 858,38 | 94,80 | 5,200 | 1,073 |
| 2207 | 2207 | 953,42 | 94,12 | 5,879 | 0,326 |
| 2428 | 2428 | 1048,89 | 94,18 | 6,816 | 1,928 |
| 2649 | 2649 | 1144,36 | 92,17 | 7,833 | 1,262 |

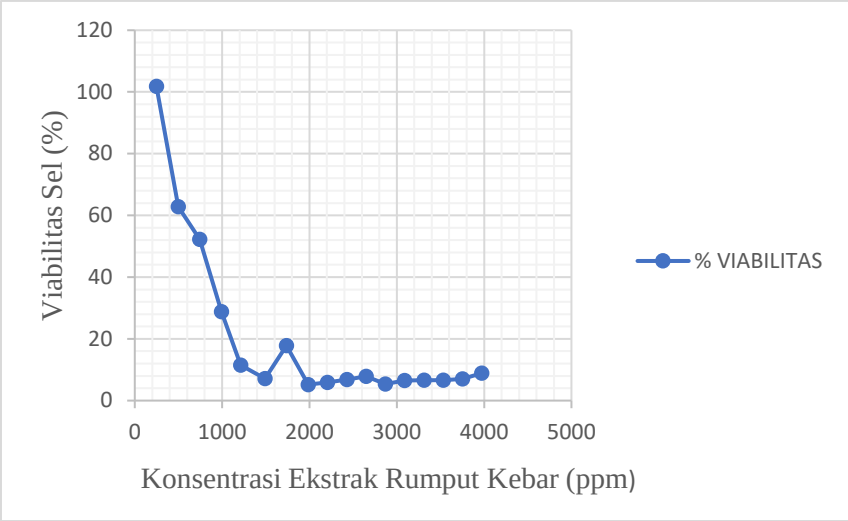
| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 2870 | 2870 | 1239,84 | 94,65 | 5,346 | 0,587 |
| 3090 | 3090 | 1334,88 | 93,45 | 6,554 | 1,854 |
| 3311 | 3311 | 1430,35 | 93,44 | 6,557 | 0,444 |
| 3532 | 3532 | 1525,82 | 93,44 | 6,561 | 0,654 |
| 3753 | 3753 | 1621,29 | 92,97 | 7,029 | 0,350 |
| 3974 | 3974 | 1716,76 | 91,15 | 8,851 | 0,529 |
| | **Kontrol Sel** | | 0,00 | 100 | 0, 000 |

Penurunan viabilitas semakin nyata seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Hal itu disebabkan oleh kandungan senyawa aktif seperti flavonoid dan terpenoid. Pada dosis atau konsentrasi tinggi, kedua senyawa dapat berperan sebagai pro-oksidan yang memicu peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*), yang menginduksi terjadinya stres oksidatif apoptosis sel. ROS adalah senyawa yang mengandung oksigen reaktif. Pada kadar rendah, ROS berperan dalam aktivasi dan modulasi jalur transduksi sinyal, pengaturan aktivitas faktor transkripsi redoks, serta menjaga pertahanan sel, sedangkan pada kadar yang tinggi, ROS bersifat toksik terhadap sel menimbulkan stres oksidatif, menyebabkan kerusakan molekul biologi seperti DNA dan dapat memicu terjadinya mutasi, inisiasi serta progresi kanker (Dragan *J et al*., 2021). Peran ganda flavonoid sebagai antioksidan maupun pro-oksidan dipengaruhi oleh konsentrasi senyawa dan kondisi mikro-lingkungan seluler, termasuk status redoks dan keberadaan ion logam transisi (Bernatoniene & Kopustinskiene, 2018).

Berdasarkan hasil pengujian, viabilitas sel secara umum menunjukkan kecenderungan menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, yang mengindikasikan adanya efek sitotoksik yang bergantung pada konsentrasi (*concentration-dependent*). Meskipun demikian, pada beberapa konsentrasi masih dijumpai fluktuasi nilai viabilitas. Sebagai contoh, nilai viabilitas pada konsentrasi 1738 ppm lebih tinggi dibandingkan pada konsentrasi 1490 ppm, kemudian kembali menurun pada konsentrasi 1987 ppm. Fluktuasi tersebut menunjukkan bahwa respons sel terhadap ekstrak tidak selalu bersifat linier pada setiap rentang konsentrasi. Hasil uji MTT diketahui dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor yang memengaruhi pembentukan formazan dan nilai absorbansi, seperti jumlah sel awal (*cell seeding density*), aktivitas metabolik sel, homogenitas suspensi sel, pembentukan dan pelarutan kristal formazan, serta kondisi selama proses pengujian. Oleh karena itu, variasi biologis maupun variasi teknis selama pengujian dapat menyebabkan perbedaan kecil pada nilai viabilitas antar konsentrasi sehingga interpretasi hasil uji MTT perlu mempertimbangkan keseluruhan pola respons, bukan hanya satu titik pengamatan (Ghasemi *et al*., 2021). Meskipun demikian, secara keseluruhan hasil penelitian ini tetap menunjukkan kecenderungan penurunan viabilitas sel seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak.

Gambar 1 merupakan grafik hasil perhitungan nilai viabilitas dari ekstrak rumput kebar pada masing-masing konsentrasi.

**JOFE : Journal of Food Engineering** | E-ISSN. 2810-0824
Vol. 5 No. 3 Juli 2026
*Hal. 146-156*




**Gambar 1.** Grafik nilai viabilitas sel ekstrak rumput kebar

Berdasarkan Gambar 1. Pada konsentrasi 248 ppm (setara dengan ekstrak rumput kebar 107,13 mg/200g BB tikus) nilai viabilitas sel mencapai 101,818%. Nilai viabilitas sel berbanding terbalik dengan efek sitotoksik, artinya semakin kecil nilai viabilitas maka efek sitotoksik semakin kuat (Ghasemi *et al*., 2021), menetapkan standar toksisitas suatu sampel ditentukan pada persentase viabilitas sel Vero. Jika nilai Viabilitas > 70% maka sampel dianggap tidak toksik atau memiliki toksisitas rendah. Pada rentang konsentrasi 993 – 3974 ppm (setara dengan ekstrak rumput kebar 428,97 - 1716,76 mg /200g BB tikus) terlihat nilai viabilitas sel < 50% berarti sampel dikategorikan sangat toksik.

Hal ini sejalan dengan penelitian lain yang menggunakan metode MTT *assay* untuk menilai tingkat toksisitas tanaman herbal. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin tinggi pula kandungan bahan aktif dan semakin besar kemampuannya dalam menyebabkan kematian sel, namun efek non-toksik pada kadar tertentu menandakan bahwa ekstrak rumput kebar dosis rendah dianggap relatife aman terhadap sel Vero.

Berdasarkan penelitian (A, Nurcahyanti *et al*., 2019) menunjukkan bahwa ekstrak rumput kebar memiliki aktivitas sitotoksisitas sedang terhadap beberapa lini sel kanker manusia, termasuk CCRF-CEM, CEM/ADR5000, HeLa, MiaPaCa-2, dan MCF-7. Senyawa fenolik dalam ekstrak diduga berperan menghambat karsinogenesis dan menekan perkembangan kanker. Dengan kata lain struktur dan aktivitas molekular dari senyawa bioaktif ekstrak rumput kebar memungkinkan pengembangan agen kemoterapi berbasis herbal. Dengan demikian ekstrak rumput kebar pada dosis 10 mg / Kg BB kera atau setara dosis 4,32 mg per 200g BB tikus, dapat dikategorikan sebagai tidak toksik atau toksisitas rendah karena nilai viabilitas sel yang tinggi, amun pada konsentrasi yang jauh lebih tinggi, efek sitotoksik dapat teramati secara signifikan, menandakan adanya dualisme aktivitas biologi dengan satu sisi bersifat non toksik (dosis rendah) dan menjadi toksik pada dosis tinggi sesuai indikator MTT *assay*.

### 3.2 Penentuan Nilai CC50 Ekstrak Etanol Rumput Kebar terhadap Sel Vero

Nilai $CC_{50}$ (*Cytotoxic Concentration* 50%) ekstrak etanol rumput kebar terhadap sel Vero ditentukan melalui analisis regresi linier antara logaritma basis 10 ($\log_{10}$) konsentrasi ekstrak sebagai variabel bebas dan persentase viabilitas sel sebagai variabel terikat menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics versi 25. Pada analisis ini, kelompok kontrol tidak disertakan karena memiliki konsentrasi 0 ppm, sehingga nilai logaritma tidak dapat dihitung secara matematis. Oleh karena itu, analisis regresi dilakukan menggunakan 17 pasangan data yang terdiri atas nilai $\log_{10}$ konsentrasi ekstrak dan persentase viabilitas sel. Hasil analisis regresi linier disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Analisis Regresi Linier

| Parameter | Nilai | F | Sig. (p) |
|---|---|---|---|
| Konstanta (a) | 278,712 | 73,625 | 0,000 |
| Koefisien Log Konsentrasi (b) | -79,291 | - | 0,000 |
| R Square ($R^2$) | 0,831 | - | - |

Persamaan regresi yang diperoleh:

$$Y = 278{,}712 + (-79{,}291)\,X$$

Substitusi Y = 50 (CC50 = konsentrasi yang menyebabkan viabilitas sel 50%):

$$50 = 278{,}712 - 79{,}291\,X$$
$$X = \frac{50-278{,}712}{(-79{,}291)} = \frac{228{,}712}{79{,}291} = 2{,}8845$$
$$CC50 = \text{antilog}\,(X) = 10^{2{,}8845}$$
$$CC50 = 766{,}41 \text{ ppm}$$

Analisis regresi linier menghasilkan persamaan Y = 278,712 − 79,291X, dengan Y merupakan persentase viabilitas sel dan x merupakan logaritma basis 10 ($\log_{10}$) konsentrasi ekstrak. Hasil uji menunjukkan bahwa model regresi tersebut signifikan secara statistik (F = 73,625; p < 0,001) dengan nilai koefisien determinasi ($R^2$) sebesar 0,831. Nilai tersebut menunjukkan bahwa sebesar 83,1% variasi persentase viabilitas sel Vero dapat diinterpretasikan oleh perubahan $\log_{10}$ konsentrasi ekstrak, sedangkan 16,9% sisanya dipengaruhi oleh faktor lain di luar model, seperti variasi biologis antarulangan maupun faktor teknis selama pelaksanaan pengujian (Ghasemi *et al*., 2021). Selain itu, koefisien regresi $\log_{10}$ konsentrasi bernilai negatif dan signifikan (B = −79,291; p < 0,001), yang menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak diikuti oleh penurunan persentase viabilitas sel Vero.

Hasil perhitungan menunjukkan nilai logaritma basis 10 ($\log_{10}$) konsentrasi sebesar 2,8845. Selanjutnya, nilai tersebut dikonversi ke satuan konsentrasi melalui perhitungan antilog ($10^x$), sehingga diperoleh nilai $CC_{50}$ ekstrak etanol rumput kebar terhadap sel Vero sebesar 766,41 ppm. Berdasarkan faktor konversi dosis yang digunakan pada Tabel 1, nilai tersebut setara dengan dosis 331,09 mg/200 g bobot badan tikus. Nilai $CC_{50}$ yang diperoleh berada di antara konsentrasi 745 ppm dengan persentase viabilitas sel sebesar 52,25% dan konsentrasi 993 ppm dengan persentase viabilitas sebesar 28,81%, sehingga hasil perhitungan tersebut sesuai dengan pola penurunan viabilitas sel yang diamati pada rentang konsentrasi tersebut.

Nilai $CC_{50}$ sebesar 766,41 ppm menunjukkan bahwa ekstrak etanol rumput kebar baru mampu menurunkan viabilitas sel Vero hingga 50% pada konsentrasi yang relatif tinggi. Pada konsentrasi terendah yang diuji, yaitu 248 ppm, persentase viabilitas sel masih melebihi 100%, yang mengindikasikan bahwa ekstrak belum menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel Vero pada konsentrasi tersebut. Hasil ini menggambarkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak diikuti oleh meningkatnya efek sitotoksik terhadap sel, sehingga menunjukkan pola respons yang bergantung pada konsentrasi (*concentration-dependent*).

## 4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rumput kebar (*Biophytum umbraculum* Welw.) memiliki aktivitas sitotoksik yang bersifat konsentrasi – *dependent* terhadap sel Vero. Pada dosis rendah yaitu 248 ppm ( setara 107,13 mg/200 g BB tikus), viabilitas sel Vero tetap tinggi (>70%), sehingga ekstrak tersebut dapat dikategorikan sebagai tidak toksik atau memiliki toksisitas rendah. Sebaliknya, pada konsentrasi yang lebih tinggi (≥ 993 ppm), nilai viabilitas sel Vero menurun signifikan hingga <50%, yang menunjukkan ekstrak memiliki sifat sangat toksik terhadap sel normal pada dosis tersebut.

Analisis regresi linier antara $\log_{10}$ konsentrasi ekstrak dan persentase viabilitas sel menghasilkan persamaan $Y = 278{,}712 - 79{,}291X$, dengan nilai $F = 73{,}625$, $p < 0{,}001$, dan $R^2 = 0{,}831$. Berdasarkan persamaan tersebut diperoleh nilai $CC_{50}$ sebesar 766,41 ppm, yang setara dengan 331,09 mg/200 g BB tikus. Nilai $CC_{50}$ tersebut menunjukkan bahwa diperlukan konsentrasi ekstrak yang relatif tinggi untuk menurunkan viabilitas sel Vero hingga 50%. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol rumput kebar memiliki tingkat keamanan yang baik pada konsentrasi rendah, tetapi dapat menimbulkan efek sitotoksik apabila digunakan pada konsentrasi yang lebih tinggi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi melalui Program Penelitian Fundamental Riset (PFR) atas dukungan pendanaan hibah penelitian sehingga kegiatan ini dapat terlaksana dengan baik. Dukungan tersebut sangat berperan dalam mendukung pengembangan riset ilmiah dan menghasilkan karya yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di Indonesia.

## DAFTAR PUSTAKA

A, Nurcahyanti, D., Trisilawati, H., Nurhayati, H., Bermawie, N., & Wink, M. (2019). Anticancer potential of kebar grass ( *Biophytum petersianum* ), an Indonesian traditional medicine Anticancer potential of kebar grass ( *Biophytum petersianum* ), an Indonesian traditional medicine. *International Conference on Food Science & Technology*. https://doi.org/10.1088/1755-1315/292/1/012063

Akanbong, E. A., Senol, A., & Devrim, A. K. (2021). Phenolic Compounds for Drug Discovery : Potent Candidates for Anti-cancer , Anti- diabetes , Anti-inflammatory and Anti-microbial. *International Journal of Veterinary and Animal Research*, *4*(3), 115–121.

Ammerman, N. C., Beier-Sexton, M., & Azad, A. F. (2009). Growth and Maintenance of Vero Cell Lines Nicole. *Curr Protoc Microbiol*, 1–10. https://doi.org/10.1002/9780471729259.mca04es11.Growth

Bakri, N. F., Appa, F. E., Imanuela, J., & Wally, P. (2025). *Potensi Antibakteri Rumput Kebar Asal Papua* (1st ed.). Penerbit Nuansa Fajar Cemerlang Jakarta.

Bernatoniene, J., & Kopustinskiene, D. M. (2018). The Role of Catechins in Cellular Responses to. *The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress*, 1–11. https://doi.org/10.3390/molecules23040965

Briguglio, G., Costa, C., Pollicino, M., Giambò, F., Catania, S., & Fenga, C. (2020). Polyphenols in cancer prevention : New insights ( Review ). *International Journal Of Functional Nutrition*, *1*(9), 1–11. https://doi.org/10.3892/ijfn.2020.9

*Test and Sensory Characteristics of Herbal Plant Leaves on Normal Cells* . *4*(1), 1–10. https://doi.org/10.25047/jofe.v4i1.5308

Dragan J, M., Mandic, A. D., Marici, S. M., & Srdjenovic, B. U. (2021). Oxidative stress and its role in cancer. *Oxidative Stress and Its Role in Cancerb*, *17*(1). https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT

Dwidhanti, R., Taufiqurrahman, I., & Sukmana, B. I. (2018). Cytotoxicity test of Binjai leaf (Mangifera caesia) ethanol extract in relation to Vero cells. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi), 51(3), 108–113. https://doi.org/10.20473/j.djmkg.v51.i3.p108-113

Freshney, R. I. (2016). Culture of animal cells: A manual of basic technique and specialized applications (7th ed.). John Wiley & Sons.

Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The MTT Assay : Utility , Limitations , Pitfalls , and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. https://doi.org/10.3390/ijms222312827

International Organization for Standardization. (2021). Biological evaluation of medical devices—Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity (ISO 10993-5:2021).

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : An Overview. *The Scientific World Journal*, *2013*. https://doi.org/10.1155/2013/162750

Lee, D., Park, J., & Seo, D.-W. (2020). Original article Suspension culture of Vero cells for the production of adenovirus type 5. *Clinical and Experimental Vaccine Research*, *9*(1), 48–55. https://doi.org/10.7774/cevr.2020.9.1.48

Mahardani, O. T., & Yuanita, L. (2021). Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan. *UNESA Journal of Chemistry*, *10*(1), 64–78.

Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. Journal of Immunological Methods, 65(1–2), 55–63. https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4

Riss, T. L., Moravec, R. A., Niles, A. L., Duellman, S., Benink, H. A., Worzella, T. J., & Minor, L. (2016). Cell viability assays. In S. Markossian et al. (Eds.), Assay guidance manual. Eli Lilly & Company and National Center for Advancing Translational Sciences.

Rollando. (2016). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Dan Fraksi Hasil Fermentasi Fungi Endofit Genus Cephalosporium Sp . Diisolasi Dari Daun Meniran ( Phyllantus Niruri Linn .) Cytotoxic Activity Of Fermentation Extract And Fraction Endophytic Fungi Genus Cephalosporium Sp Isola. *Jurnal wiyata*, *3*, 5–10.

Vijayarathna, S., & Sasidharan, S. (2012). Cytotoxicity of methanol extracts of Elaeis guineensis on MCF-7 and Vero cell lines. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*(10), 826–829. https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60237-8