

SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL BAWANG PUTIH TERHADAP SEL FIBROBLAS BHK-21

Herlambang Prehananto^{1*}, Farhan Arny^{2*}
herlambang@iik.ac.id

^{1,2}Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

ABSTRAK

Saat ini pengobatan tradisional menjadi sangat populer di dunia kedokteran gigi. Bawang putih (*Allium Sativum L.*) merupakan salah satu tumbuhan herbal yang sering digunakan sejak dahulu kala sebagai obat alternatif. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa kandungan bawang putih yaitu *Allicin* memiliki aktivitas anti bakteri dalam melawan bakteri *Streptococcus mutans* dan sebagai anti jamur dalam melawan *Candida albicans*. Sebagai salah satu produk kesehatan gigi, bawang putih harus memiliki sifat tidak beracun sebelum didistribusikan ke masyarakat. **Tujuan** Untuk mengetahui sitotoksisitas ekstrak etanol bawang putih terhadap sel fibroblas BHK-21 berdasarkan kematian sel 50% (*LC50*) menggunakan metode *MTT assay*. **Bahan dan Metode** Setiap kelompok terdiri dari 4 perlakuan pada 96 *well*. Kultur sel BHK-21 di persiapkan di media, dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dan ditambahkan 100µl ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% bersama dengan sel fibroblas BHK-21. Simpan *well* ke inkubator selama 24 jam. Pengukuran sitotoksisitas berupa nilai *optic density* dan di baca dengan 620 nm *ELISA* reader. Nilai absorbansi menunjukkan jumlah sel hidup dalam media. **Hasil** Pada konsentrasi 20% dan 40% kematian sel di bawah 50% dan pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100% terdapat peningkatan kematian sel di atas 50% yang berarti bahwa toksisitas meningkat, tetapi rata-rata kematian sel masih dibawah 50%. **Kesimpulan** Ekstrak etanol bawang putih tidak toksik dan memiliki nilai *LC50* pada konsentrasi 26.4%.

Kata Kunci : *Sitotoksisitas, Bawang Putih, Fibroblas*

PENDAHULUAN

Bawang putih adalah nama tanaman dari genus *Allium* sekaligus nama dari umbi yang dihasilkan. Umbi dari tanaman bawang putih merupakan bahan utama untuk bumbu dasar masakan Indonesia. Umbi lapis bawang putih berupa umbi lapis majemuk berbentuk bundar, garis tengahnya 4-6 cm, terdiri dari 8-20 siung. Seluruhnya diliputi 3-5 selaput tipis serupa kertas berwarna agak putih. Bawang putih penuh dengan senyawa *sulfur*, termasuk zat kimia yang disebut *alliin*, yang membuat bawang putih mentah terasa getir.¹

Bawang putih memiliki setidaknya 33 komponen sulfur, beberapa enzim, 17 asam amino dan banyak mineral, contohnya selenium. Bawang putih memiliki komponen *sulfur* yang lebih tinggi dibandingkan dengan spesies *Allium* lainnya. Komponen *sulfur* inilah yang memberikan bau khas dan berbagai efek obat dari bawang putih. Bawang putih memiliki potensi farmakologis sebagai agen antibakteri, antifungi, dan antihipertensi.² Pada penelitian sebelumnya, melaporkan

Ekstrak Bawang putih pada konsentrasi 75% efektif menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.³ Ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 8% dapat dengan efektif menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.⁴ Dari kedua penelitian dapat disimpulkan bahwa Ekstrak bawang putih memiliki daya hambat pada bakteri maupun jamur, sebelum digunakan klinis bahan ini harus di uji sitotoksitnya agar mengetahui apakah Ekstrak bawang putih ini toksik pada manusia atau tidak.

Uji sitotoksik merupakan bagian dari evaluasi bahan Kedokteran Gigi, dan diperlukan untuk prosedur skrining standar. Tujuan uji ini untuk mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. Kultur sel telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas berbagai bahan dan obat-obatan dibidang Kedokteran Gigi.⁵

Pada uji sitotoksik dapat menggunakan sel fibroblas, untuk mengetahui efek konsentrasi Ekstrak terhadap kematian sel fibroblas, sel ini sering digunakan dalam penelitian *invitro*, karena sel ini lebih mudah di gunakan dan mudah untuk tumbuh serta sel ini sangat sensitif terhadap agen toksik.⁵

Sel fibroblas merupakan sel yang penting dalam penyembuhan luka, dan mempunyai peran sangat penting dalam mensekresi kolagen yang kemudian akan terjadi regenerasi pada jaringan. Fungsi fibroblas diantaranya adalah memproduksi dan mempertahankan matriks ekstraseluler, yaitu serat kolagen serta mengaktifasi *remodeling* jaringan yang rusak. Peran ini menunjukkan bahwa jika terjadi kerusakan sel fibroblas yang parah, akan mengakibatkan penyembuhan luka yang lama.⁶

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, peneliti ingin melakukan uji sitotoksitas ekstrak etanol bawang putih terhadap sel fibroblas BHK-21, untuk dapat mengetahui konsentrasi ekstrak bawang putih yang aman bagi tubuh, dan tidak menyebabkan kerusakan pada jaringan.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dipergunakan adalah *True eksperimental* dengan rancangan *posttest only control group design*. Pembuatan ekstrak bawang putih dilakukan di Balai Materia Medika Dinas Kesehatan Jawa Timur. Pembuatan kultur jaringan dan penelitian dilakukan di Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya.

Kemudian, setiap sumuran ditambahkan *Dimethylsulfoxide* (DMSO) sebanyak 50µl. *Plate* diaduk secara mekanis dengan *Plate Shaker*, sampai Kristal formazan terlarut ± 10 menit. Selanjutnya, formazan dibaca absorbansinya secara *spekrofotometri*, dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 620 nm. Analisa data untuk penentuan *LC50* menggunakan analisa *probit* yang di hitung dengan bantuan *software spss 21*.

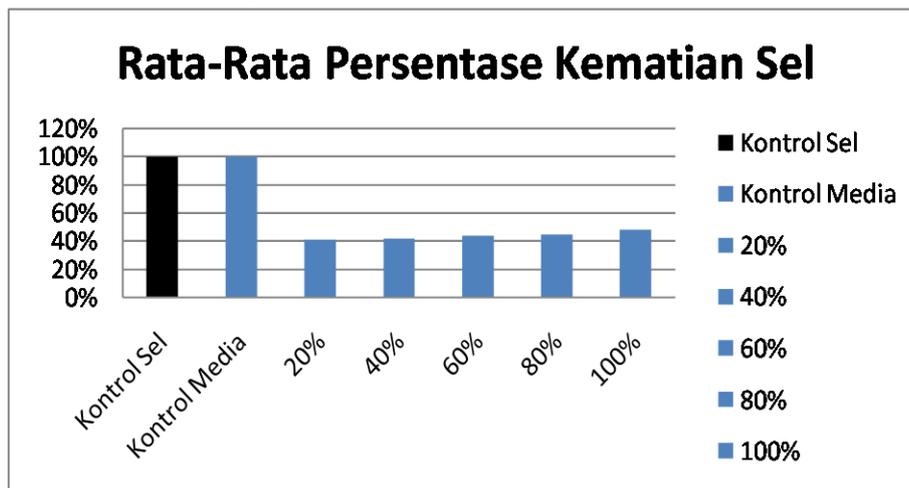
HASIL

Tabel 1. Persentase kematian sel fibroblas setelah diberi perlakuan

Perlakuan	Konsentrasi ekstrak Bawang putih					Kontrol media	Kontrol sel
	20%	40%	60%	80%	100%		
1	36,5%	37,8%	37,5%	38,2%	41,4%	100%	100%
2	38,1%	37,5%	38,7%	39,3%	42,5%	100%	100%
3	44%	48%	54,7%	55,4%	56,8%	100%	100%
4	49%	47,5%	49%	50,4%	51,5%	100%	100%
Total	41,9%	42,7%	44,8%	45,8%	48,05%	100%	100%

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, di peroleh data persentase kematian sel fibroblas setelah di berikan perlakuan (Tabel 1). Sel fibroblas yang di uji sitotoksisitas dengan menggunakan ekstrak etanol bawang putih 20% menunjukkan persentase kematian sel yang paling rendah setelah kontrol media, yaitu dengan jumlah rata-rata kematian sel 41,9%. Persentase kematian sel terlihat meningkat seiring bertambahnya konsentrasi bawang putih yang di berikan. Persentase kematian sel yang paling banyak setelah kontrol sel di tunjukkan oleh sel yang di uji sitotoksisitasnya dengan menggunakan ekstrak bawang putih 100%.

Gambar 1. Grafik rata-rata persentase kematian sel fibroblas (*BHK-21*) setelah kontak 24 jam



Hasil uji sitotoksisitas setelah kontak 24 jam memperlihatkan rata-rata persentase kematian sel fibroblas (*BHK-21*) untuk masing-masing kelompok ekstrak Bawang putih dengan konsentrasi 20% (41,9%), konsentrasi 40% (42,7%), konsentrasi 60% (44,8%), konsentrasi 80% (45,83%), dan konsentrasi 100% (48,05%).

Tabel 2. Hasil Uji Probit untuk menentukan *LC50*

<i>Confidence Limits</i>				
PROBIT ^a	Probit	95% <i>Confidence Limits for</i> konsentrasi bawang putih		
		<i>Estimate</i>	<i>Lower Bound</i>	<i>Upper Bound</i>
	.500	264	255	274

Tabel 2 menunjukkan bahwa *LC50* terdapat pada konsentrasi 26,4%, serta konsentrasi yang terendah terdapat pada 25,5%, dan konsentrasi yang tertinggi terdapat pada 27,4%.

PEMBAHASAN

Hasil pada grafik (Tabel 1) menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi ekstrak bawang putih, semakin meningkat pula persentase kematian sel fibroblas. Pada hasil penelitian ini terdapat pengaruh yang ditimbulkan terhadap viabilitas sel fibroblas berupa perubahan permeabilitas membran sel. Efek sitotoksik dari sitotoksin dapat menyebabkan terjadi perubahan permeabilitas membran sel atau kerusakan integritas membran sel sehingga membran selnya bisa ditembus oleh pewarna *trypan blue*. Kerusakan pada membran sel dapat menyebabkan sel berkembang abnormal dan selanjutnya dapat menyebabkan kematian sel. Jadi semakin besar pengaruh yang ditimbulkan akan mengakibatkan semakin banyak sel mati, yang juga berarti persentase kematian sel semakin meningkat.⁷⁻⁹

Terdapat beberapa mekanisme biokimiawi yang diduga memperantarai kematian sel, hal ini dapat menjelaskan terjadinya kematian sel sehubungan dengan toksisitas suatu bahan. Mekanisme biokimia tersebut antara lain: penipisan kadar *Adenosin Triphosphate* (ATP) dan efek pada membran sel. Enzim dehidrogenase adalah salah satu enzim yang berperan dalam pembentukan ATP, yaitu suatu bentuk energi yang sangat dibutuhkan oleh sel untuk berbagai aktivitas fungsional sel. Jika enzim dehidrogenase tidak aktif akibat efek sitotoksik suatu sitotoksin, maka ATP berkurang, aktivitas sel terganggu, sehingga dapat mengakibatkan kematian sel.⁵

Pada hasil yang di dapatkan adanya peningkatan kematian sel dari perlakuan pertama hingga perlakuan keempat, ada peningkatan kematian juga dalam perbedaan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%, tetapi tidak terdapat perbedaan yang banyak dalam peningkatan kematian sel pada setiap perlakuan dan perbedaan konsentrasi, dalam rata-rata disetiap perlakuan juga menunjukkan adanya peningkatan jumlah kematian sel tetapi rata-rata disetiap perlakuan masih menunjukkan angka

dibawah 50% dari kehidupan sel.

Pada konsentrasi 40% yang menunjukkan adanya penurunan kematian sel yang lebih rendah dari konsentrasi 20% dan kembali meningkat pada konsentrasi 60% hingga konsentrasi 80% dan konsentrasi 100%. Peningkatan persentase jumlah sel fibroblas yang mati ini kemungkinan di sebabkan karena adanya kandungan *Allicin* yang semakin besar dan disebabkan terkontaminasinya ekstrak bawang putih saat memberikan perlakuan dalam *microplate* atau disaat melakukan pengenceran konsentrasi pada ekstrak bawang putih.¹¹

Bawang putih yang ditumbuk akan mengubah *thiosulfinat* secara spontan menjadi sulfida. Komponen sulfida utama yang terbentuk adalah *Allicin*. *Allicin* merupakan salah satu komponen aktif utama dalam bawang putih yang mempunyai efek antibakteri, antioksidan, dan antikarsinogenik. *Allicin* bersifat tidak stabil, dimana *Allicin* hanya bertahan sebentar dan mulai berdegradasi pada saat terbentuk, kandungan bahan inilah yang akan mengganggu aktivitas fungsional self fibroblas.¹²

Tetapi kandungan *Allicin* dalam bawang putih mampu menguraikan protein pada sel yang rusak sehingga protein tersebut mudah dicerna oleh tubuh dan mampu meningkatkan kekebalan non-spesifik melalui aktivitas fagositosis dan merangsang aktifitas sel yang berperan dalam respons imunitas. Senyawa ini juga dapat menjadi antioksidan dan antigen yang dapat digunakan sebagai pelindung tubuh dari pengaruh buruk lingkungan. Bawang putih juga dapat membantu meredakan stress, kecemasan, dan depresi. Tentunya dengan efek yang lebih lembut. Karena bawang putih dapat membantu melepaskan serotonin dalam otak. Karena itu kandungan *Allicin* bawang putih sangat ditoleransi oleh tubuh.¹²

Aktivitas fungsional sel fibroblas yaitu berproliferasi maupun memproduksi matriks ekstra seluler dan fibronectin, sehubungan dengan proses perbaikan jaringan, akan terganggu jika paparan sitotoksin menyebabkan sel mengalami jejas yang mengakibatkan sel *non viabel*. Hal tersebut disebabkan seluruh mekanisme seluler merupakan proses yang saling berkaitan, jika salah satu komponen sel mengalami jejas, maka semua aktivitas sel akan terpengaruh, termasuk diantaranya proses perbaikan jaringan, sehingga aktivitas fungsional sel akan mengalami gangguan.³

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa konsentrasi *LC50* ekstrak bawang putih adalah sebesar 26,4%, Dapat dilihat juga bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak bawang putih yang digunakan semakin banyak sel yang mati. Rata-rata kematian pada

sel fibroblas masih dibawah 50% dan dapat dianggap bahwa ekstrak bawang putih tersebut tidak toksik. Sehingga jika ekstrak bawang putih ini digunakan sebagai bahan herbal obat kumur untuk mengurangi akumulasi plak, bahan ini tidak akan mengiritasi jaringan pada rongga mulut dan tidak akan mengganggu proses penyembuhan luka jika terdapat luka di dalam rongga mulut.¹⁰

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak bawang putih (*Allium Sativum* L.) tidak toksik setelah dilakukan uji sitotoksisitas terhadap sel fibroblas dengan batas nilai konsentrasi 26,4%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fuchun W, Yuhua D. *Khasiat jahe, bawang putih dan bawang hijau untuk pengobatan berbagai macam penyakit*. Jakarta: Prestasi Pustaka. 2022; 13-6
2. Londhe V, Gavasane A, Nipate S, Bandawane D, Chaudhari P. Role of Garlic (*Allium Sativum*) in Various Disease: an overview. *J Pharm Res Opin*. 2011; 129-34
3. Indraswari, N.M.W.S., Setyowati, D.I., Hamzah, Z. Efektivitas Ekstrak Bawang Putih dan Bawang Hitam dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans*. *e-Journal Pustaka Kesehatan*, vol. 10 (no. 2), Mei, 2022; 114-119
4. Ali, D.Q., Saputera, D., Budiarti, L.Y. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Bawang Putih dengan Sodium Hipoklorit terhadap *Streptococcus mutans* pada Plat Akrilik. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*, Vol. 1, No. 1, April, 2017; 16-21
5. Conway, E.M., Collen D., Carmeliet P. *Molecular Mechanisms of blood vessel growth*. *Cardiovas Res*. 2000; 49
6. Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putman, J. E., Jacobsen, L. B., Nicols, D. E., and Mclaughlin, J. *Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents*. *Plant Medica*. 2005; 34-35
7. Emilda, Y., Budipramana, E., Kuntari, S. Uji toksisitas ekstrak bawang putih (*Allium Sativum*) terhadap kultur sel fibroblast (*Garlic (Allium Sativum) extract toxicity test on fibroblast cell culture*). *Dental Journal*, 47(4), 2014; 215–219.
8. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Pathologic basic of disease*. 7th ed. Philadelphia :Elsavier Saunders. 2005; 102-10
9. Nuryati S, Giri P, Hadiroseyani Y. Efektivitas ekstrak bawang putih *allium sativum* terhadap ketahanan tubuh ikan mas *cyprianus carpio* yang diinfeksi Koi Herpes Virus (KHV). *Jurnal Akuakultur Indonesia*; 7(2). 2008; 139-50.
10. Anggara, Citra Jasmine. Pengaruh Teknik Desinfeksi Cetakan Alginat Dengan Perasan Bawang Putih (*Allium Sativum*L.) Terhadap Stabilitas Dimensi

Model Gips. 2015; Available from :
<http://repository.unhas.ac.id/handle/123456789/15681>

11. Dewi, K. I., Rukmo, Mandojo., Effendy, Ruslan. Efek Dosis dan Lama Pemberian Purperyl terhadap Kematian Sel Fibroblas. *JBP*, Vol. 8, No. 2, Mei, 2006; 87-92
12. Atmadja, Djaja Surja. *Bawang Putih untuk Kesehatan(Terjemahan dari Garlic for Health, karangan David Roser)*.PT. Bumi Aksara : Jakarta. 2002; 59
13. Notoatmojo, Soekidjo. *Metode Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta. 2010; 56