



RESEARCH ARTICLE

ACUTE TOXICITY TEST AND ALLERGY TEST OF GARLIC (*Allium sativum* L.) EXTRACT ON MICE (*Mus Musculus*)

Hendri Poernomo^{1*}, Setiawan², Maria Stella Gresitha³

1. Departement of Oral Surgery, Faculty of Dentistry Mahasaraswati Denpasar University
2. Departement of Oral Surgery, Faculty of Dentistry Mahasaraswati Denpasar University
3. Student of Faculty of Dentistry Mahasaraswati Denpasar University

ABSTRACT

Background: Garlic is believed to have numerous benefits in addressing health issues, particularly in wound healing. Therefore, its safety needs to be assessed through acute toxicity and allergy tests. Acute toxicity testing is conducted to measure the degree of toxicity of a compound administered to test animals. **Objective:** This study aims to determine the toxicity and allergic effects of garlic extract (*Allium sativum* L.) on mice (*Mus musculus*). **Method:** This study employs an in vivo laboratory experimental design using the Post Test-Only Control Group Design. The acute toxicity test was conducted using the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) 425 method by calculating the lethal dose 50 (LD50) in mice (*Mus musculus*) with 25 subjects. **Results:** The acute toxicity test results showed that the LD50 value of garlic extract was 15 g/kg BW (mildly toxic) and did not show any allergic symptoms. The body weights of the mice before and after the treatment were analyzed using the OneWay ANOVA test. The analysis indicated no significant difference at a test level of 0.05 ($p < 0.05$). **Conclusion:** Garlic extract (*Allium sativum* L.) does not cause allergies and does not affect toxicity levels at doses of 5000 mg/kg BW, 10,000 mg/kg BW, 15,000 mg/kg BW, and 20,000 mg/kg BW. However, it causes liver damage in mice at doses of 15,000 mg/kg BW and 20,000 mg/kg BW.

Keywords: garlic (*Allium sativum* L.), allergy test, LD50, acute toxicity

Corresponding: Maria Stella Gresitha, Departement of Oral Surgery, Faculty of Dentistry Mahasaraswati Denpasar University., Jln Kamboja no 11A, Denpasar-Bali., email: mariagresitha@gmail.com



PENDAHULUAN

Bawang putih adalah tanaman herbal parenial yang membentuk umbi lapis dan mengandung lebih dari 100 metabolit sekunder yang sangat bermanfaat bagi kesehatan yaitu alliin, alliinase, allisin, S-allilsistein, diallil sulfida, allil metil trisulfida (Hasanah. 2020). Senyawa metabolit organosulfur alliin berfungsi sebagai agen antiagregasi sel platelet dan pemacu fibrinolisis, dimana dua hal tersebut dapat mempengaruhi terjadinya hemostasis pada fase inflamasi (Poernomo & Ma'ruf 2020). Banyaknya manfaat yang dapat diperoleh dari bahan alami mendorong minat masyarakat terhadap penggunaan bahan alami sebagai obat untuk menjaga kesehatan dan mengobati penyakit ringan, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai khasiat maupun keamanannya melalui uji toksisitas akut dan alergi (Dewoto 2007).

Toksisitas merupakan suatu keadaan yang menandakan efek toksik/racun yang terdapat pada bahan obat sebagai sediaan dosis tunggal atau campuran. Uji toksisitas adalah salah satu pengujian yang dilakukan untuk menilai keamanan suatu senyawa kimia baik senyawa itu sendiri maupun senyawa yang berada dalam bahan-bahan lainnya (Setiasih dkk 2016).

Uji toksisitas akut merupakan salah satu uji paraklinik yang penting karena dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam waktu yang singkat setelah pemajanan atau pemberiannya dalam takaran tertentu yang diamati selama 24 jam atau selama 7-14 hari (Makiyah & Tresnayanti 2017).

Alergi adalah suatu respon hipersensitivitas akibat induksi oleh imunoglobulin E (IgE) yang spesifik terhadap alergen tertentu yang berikatan dengan sel mast atau sel basofil. Ketika antigen terikat, terjadi silang molekul IgE, sel mast manusia dirangsang untuk berdegranulasi dan melepaskan histamin, leukotrein, kinin, Plateletes Activating Factor (PAF), dan mediator lain dari hipersensitivitas, dimana histamin adalah faktor utama berbagai macam alergi (Rahmah 2015).

Menurut penelitian lain yang dilakukan oleh Poernomo & Ma'ruf (2020) mengenai "Pengaruh Gel Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Jumlah



Selmakrofag Pada Penyembuhan Luka Insisi Gingiva Marmut (*Cavia Porcellus*)” menunjukkan bahwa gel ekstrak bawang putih 60% lebih efektif dalam menurunkan jumlah sel makrofag pada penyembuhan luka insisi gingiva marmut dibandingkan dengan konsentrasi 40% dan 50%. Dalam hal ini peneliti terdorong untuk meneliti uji keamanan yaitu uji toksisitas akut dan alergi menggunakan ekstrak bawang putih dengan mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan coba.

TUJUAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas dan alergi serta dosis yang tidak menyebabkan efek toksisitas ekstrak bawang putih (*Allium sativum L.*) terhadap mencit (*Mus musculus*).

METODE

Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratoris in vivo dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana menggunakan rancangan *The Post Test-Only Control Group Design* dan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk pengelompokkan sampel serta metode Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) 425 dengan menghitung *lethal dose 50* pada mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan coba.

Penelitian ini menggunakan perhitungan sampel dengan rumus Federer yaitu:

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

n : jumlah sampel

t : jumlah kelompok



$$\begin{aligned}(n-1)(t-1) &\geq 15 \\(n-1)(5-1) &\geq 15 \\(n-1)4 &\geq 15 \\4n-4 &\geq 15 \\4n &\geq 19 \\n &\geq 4,75 \approx 5\end{aligned}$$

Berdasarkan rumus tersebut, maka didapatkan perhitungan besar sampel sebagai berikut:

Besar sampel yang didapatkan dari perhitungan tersebut adalah $n = 5$, maka jumlah keseluruhan sampel adalah 25 ekor dan dibagi menjadi 5 pada setiap kelompok uji.

Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan *simple random sampling*, yaitu teknik pengambilan anggota sampel yang memberikan kesempatan yang sama kepada suatu populasi untuk dijadikan sampel. Dibutuhkan 5 ekor hewan coba pada 4 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Identifikasi variabel yakni variabel bebas (ekstrak bawang putih 60%) dan variabel terikat (Tingkat toksisitas dan gejala alergi).

Instrumen penelitian

Alat:

1. Gelas laboratorium
2. Blender (national)
3. *Rotary evaporator* (Buchi)
4. Kendang mencit
5. Lemari pengering
6. Neraca kasar, neraca listrik, neraca hewan
7. *Oral sonde*, penangas air, tanur

Bahan:



1. Bawang putih
2. Akuades dan etanol 96%
Pelaksanaan dan alur penelitian:
 1. Pembuatan ekstrak bawang putih dilakukan di Laboratorium Sumber Daya Genetika dan Biologi Molekuler Universitas Udayana menggunakan metode maserasi yang dilakukan 5 kali dengan tujuan memperoleh maserasi berwarna jernih, kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental bawang putih.
 2. Uji fitokimia untuk mengetahui zat aktif flavonoid % menggunakan ekstrak bawang putih 500mg ditambahkan 5 tetes etanol 80% kemudian dikocok lalu dipanaskan dan dikocok kembali kemudian disaring lalu ditambahkan 0,5g magnesium dan 0,5 mol HCL. Alkaloid % menggunakan ekstrak bawang putih 500 mg ditambahkan 1 ml HCL 2 N dan 9 ml akuades dipanaskan selama 2 menit, lalu didinginkan dan disaring. filtrat dimasukkan ke masing-masing tabung dan diteteskan pereaksi sebanyak 2 tetes ke masing-masing tabung reaksi kemudian amati hasilnya. Fenolik % menggunakan ekstrak bawang putih 500 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3-4 tetes $FeCl_3$ hingga terjadi perubahan warna. Tanin % menggunakan ekstrak bawang putih 500mg dimaserasi dengan akuades lalu disaring, filtrat diencerkan dengan akuades sampai hampir tidak berwarna. Sebanyak 2 ml filtrat ditambahkan 2 tetes $FeCl_3$ dan diamati warna yang terbentuk
 3. Uji toksisitas akut oral menggunakan mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan bobot 25-30gram yang dipuasakan dengan tetap boleh memberikan air minum selama 3-4 jam kemudian ditimbang. Kelompok perlakuan I diberikan ekstrak bawang putih sebanyak 5000mg/kgBB. Kelompok perlakuan II 10.000mg/kgBB. Kelompok perlakuan III 15.000mg/kgBB. Kelompok perlakuan IV 20.000mg/kgBB, sedangkan kelompok kontrol akan diberikan aquadest. Ekstrak bawang putih akan diberikan dalam dosis tunggal dengan menggunakan *oral sonde*, sebanyak satu kali 24 jam, selanjutnya hewan coba diamati setiap hari selama 14 hari untuk mengetahui gejala toksik yang muncul. Hewan coba yang sekarat akan dimasukkan dalam kategori perhitungan sebagai hewan coba yang mati.

- Uji alergi menggunakan 5 ekor mencit yang sudah dicukur rambut bagian punggung seluas 3x3 cm kemudian dibiarkan selama 24 jam. Mencit diolesi ekstrak bawang putih 60% pada bagian yang dicukur dan ditutup menggunakan plastik agar cairan tidak menguap, lalu dilapisi dengan kain kasa. Kemudian diamati pada 1 jam, 2 jam, 3 jam, dan 24 jam untuk mengetahui adanya perubahan perilaku kemudian plastik dan kain kasa dibuka lalu diamati perubahan yang terjadi pada permukaan kulit mencit.

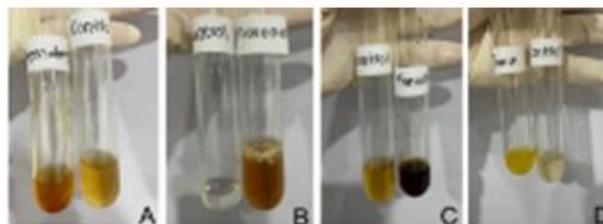
HASIL

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Bawang Putih

Keterangan: (+) = mengandung golongan senyawa

(-) = tidak mengandung golongan senyawa

No	Golongan	Parameter	Metode	Hasil
1	Alkaloid	Endapan kuning jingga	Dragendrof	+
2	Flavonoid	Warna kuning	Mg + Hcl	+
3	Fenolik	Warna hitam pekat	Fecl3	+
4	Tannin	Warna biru / hijau	Fecl3	-



Hasil uji skrining fitokimia (A) uji alkaloid, (B) uji flavonoid, (C) uji fenolik, (D) uji tannin.

Hasil uji fitokimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dalam ekstrak bawang putih mengandung alkaloid, flavonoid, dan fenolik

Hasil Rerata Berat Badan Tiap Kelompok Mencit Sebelum dan Sesudah Diberi Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum L.*) pada Mencit

Kelompok	Sebelum (g)	Sesudah (g)
K	20,6 ± 0,87	25,1 ± 0,81
P1	19,62 ± 1,07	23,66 ± 1,19
P2	21,34 ± 0,61	25,34 ± 0,58
P3	21,82 ± 1,54	23,32 ± 1,14
P4	21,1 ± 1,74	24,02 ± 1,11



Tabel diatas menunjukkan bahwa rerata berat badan mencit tertinggi sebelum diberi sediaan ekstrak bawang putih yaitu pada kelompok P3 dan berat badan terendah pada kelompok P1 sedangkan rerata berat badan mencit setelah diberi sediaan ekstrak bawang putih tertinggi yaitu kelompok P2 dan berat badan terendah pada kelompok P3.

Uji Normalitas Data

Kelompok Perlakuan	Sesudah		
	Statistik	df	ρ
K	0,993	5	0,988
P1	0,946	5	0,705
P2	0,991	5	0,982
P3	0,945	5	0,703
P4	0,883	5	0,321

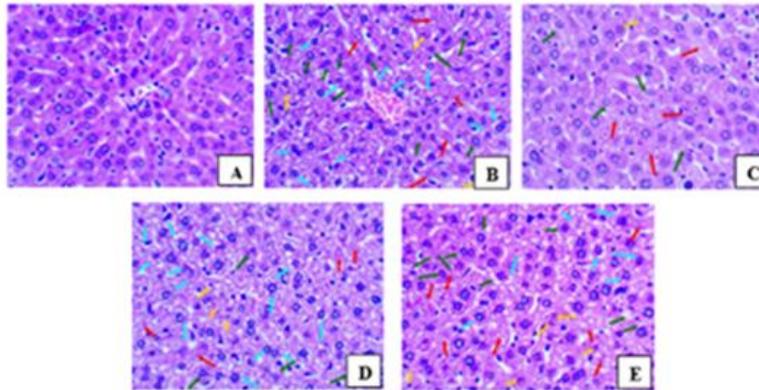
Berdasarkan hasil uji normalitas diatas diketahui nilai $\rho > 0,05$ berarti data disetiap kelompok berdistribusi normal.

Uji Perbedaan dengan One Way Anova Sesudah Pemberian Ekstrak Bawang Putih terhadap Mencit

Hasil	Jumlah Kuadrat	df	Kuadrat Rata-rata	F	Sig.
Diantara Kelompok	15,846	4	3,962	3,966	0,016
Dalam Kelompok	19,980	20	0,999		
Total	35,826	24			

Berdasarkan pada tabel diatas, diketahui nilai signifikansi 0,016 ($\rho < 0,05$) artinya H_0 ditolak atau terdapat perbedaan yang signifikan berat mencit sesudah diberikan ekstrak bawang putih antara setiap kelompok perlakuan.

Hasil Pengamatan Preparat Hati Mencit Secara Mikroskopis



Keterangan : A. Normal; B. Normal; C. Normal; D. Degenerasi Parenkim; E. Degenerasi Parenkim; ■ Vena sentral; ■ Sinusoid; ■ Inti sel hati

<u>Kelompok perlakuan</u>	<u>Rerata Skor Sampel</u>	<u>Keterangan</u>
K	1,2	Normal
P1	1,4	Normal
P2	1,8	Normal
P3	2	<u>Degenerasi Parenkimatosia</u>
P4	2,4	<u>Degenerasi Parenkimatosia</u>

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian pemberian ekstrak bawang putih (*Allium sativum L.*) 60% dengan dosis 5000mg/kg BB, 10.000mg/kg BB, 15.000mg/kg BB, dan 20.000mg/kg BB tidak menyebabkan kematian dan tidak ada gejala klinis yang muncul pada mencit. hal ini diduga oleh karena kandungan senyawa yang ada dalam bawang putih yaitu flavonoid, alkaloid, dan fenolik.

flavonoid sebagai anti-inflamasi bekerja dengan cara memproduksi pro inflamatori mediator menstimulasi sel yang berkaitan dengan inflamasi seperti limfosit, monosit, *natural killer sel*, neutrophil, makrofag, dan sel mastosit (Sangeetha et al. 2016). alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri, mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel



tersebut (Masniawati, Johanes, & Winarti 2021). Senyawa fenolik merupakan kelompok senyawa terbesar yang berperan sebagai antioksidan alami pada tumbuhan. Senyawa fenolik memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol, yaitu gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis sehingga mudah teroksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas. Kemampuannya membentuk radikal fenoksi yang stabil pada reaksi oksidasi menyebabkan senyawa fenolik sangat potensial sebagai antioksidan (Dhurhania & Novianto 2019).

Pengamatan hati mencit yang telah diberi ekstrak bawang putih dan diamati selama 14 hari di periksa dibawah mikroskop yang menunjukkan pada kelompok kontrol yang diberikan aquadest, P1 dengan dosis 5000mg/kg BB, dan P2 dengan dosis 10.000mg/kg BB cenderung pada kondisi normal atau tidak terjadi perubahan pada hati mencit. Kelompok P3 dengan dosis 15.000mg/kg BB dan kelompok P4 dengan dosis 20.000mg/kg BB terjadi degenerasi parenkimatososa pada hati mencit.

Perubahan yang terjadi pada hati berupa degenerasi hati kemungkinan disebabkan oleh senyawa fenol yang terkandung di dalam ekstrak bawang putih. Senyawa fenolik, memiliki sekurang - kurangnya satu gugus fenol. Senyawa fenol merupakan jenis polutan yang berbahaya karena bersifat toksik dan dapat mengakibatkan kerusakan hati dan ginjal, penurunan tekanan darah, pelemahan detak jantung, hingga kematian apabila diberikan dalam konsentrasi tertentu (Asuhadi, Arafah, & Amir 2019).

perhitungan nilai LD₅₀ dengan menggunakan metode Aritmatika dari Karber. Hasil yang didapat yaitu dosis 15.000mg/kgBB merupakan dosis yang menyebabkan degenerasi parenkimatososa pada hewan coba dan nilai LD₅₀ didapatkan 15 gr/Kg BB dan termasuk ke dalam kategori toksik ringan karena berada pada rentang 5-15gr/Kg BB.

KESIMPULAN

Dosis ekstrak bawang putih (*Allium sativum L.*) tidak menyebabkan alergi dan tidak berpengaruh terhadap tingkat toksisitas dengan dosis 5000mg/kg BB, 10.000mg/kg BB, 15.000mg/kg BB dan 20.000mg/kg BB namun menyebabkan kerusakan hati mencit pada dosis 15.000mg/kg BB dan 20.000mg/kg BB.



DAFTAR PUSTAKA

1. Asuhadi, S., Arafah, N. and Amir, A.B., 2019. Kajian terhadap potensi bahaya senyawa fenol di perairan laut wangi-wangi. *Ecogreen*, 5(1), pp.49-55.
2. Dewoto, H.R., 2007, 'Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka', *Majalah Kedokteran Indonesia* 57(7), hal.205-21
3. Dhurhania, C. & Novianto, A. 2019. Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5. 62.
4. Hasanah, A. N. (2020). Interaksi Sinergisitas Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum L. L.*) dengan Antibiotik Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* (Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin).
5. Makiyah, A., & Tresnayanti, S., 2017. Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis Bl.*) pada Tikus Putih Strain Wistar. *Majalah kedokteran bandung*. 49(3).145-155
6. Masniawati, A. Johanes, E. & Winarti, W. 2021. Analisis Fitokimia Umbi Talas Jepang *Colocasia Esculentai L. (Schott) Var. Antiquorum* Dan Talas Kimpul *Xanthosoma Sagittifolium L. (Schott)* Dari Dataran Rendah. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*. 12(2), 7-14.
7. Poernomo, H., & Ma'ruf, M. T. 2020. Pengaruh Gel Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum L. L.*) Terhadap Jumlah Sel Makrofag Pada Penyembuhan Luka Insisi Gingiva Marmut (*Cavia Porcellus*). *Interdental: Jurnal Kedokteran Gigi*, 16(2), 34-39.
8. Sangeetha, S.K., Umamaheswari, S., Reddy, M., Kalkura, N.S., 2016. *Flavonoids : Therapeutic Potential of Natural Pharmacological Agents. Int. J. Pharm. Sci. Res.* 7, 3924–3930.
9. Rahmah, J, A. 2015. Hubungan Penggunaan Antibiotik Ibu Pada Trimester II dan III Kehamilan dengan Angka Kejadian Alergi Pada Bayi 0-3 Bulan. Skripsi, Fakultas Kedokteran Universitas Dipenogoro



10. Setiasih, I, S., Hanindah, I., Wira, D, W., Rialita, T., & Sumanti, D. 2016. Uji Toksisitas Kubis Bunga Diolah Minimal (KBDM) Hasil Ozonasi. *Jurnal Penelitian Pangan*, 1(1), 22-26