

Pengaruh Kombinasi Ekstrak Umbi Lapis Bawang Putih dan Ekstrak Rimpang Kunyit terhadap Janin Mencit Swiss-Webster

Elin Yulinah Sukandar¹, Irda Fidrianny, Afrillia Nuryanti Garmana
Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung.

Abstract

The influence of solution of garlic (*Allium sativum* L.) in water and solution of turmeric (*Curcuma domestica* Val.) in ethanol had been studied in pregnant Swiss-Webster mice. The garlic and turmeric extract were administered orally at dose level combination of 100:100, 500:500, and 1000:1000 mg/kg body weight on day sixth to fifteenth of gestation. The mother was sacrificed on day eighteenth day of gestation to observe life fetus, resorption, and growth failure. One third of the fetuses were eviscerated for skeletal staining with alizarin red and two third of the fetuses were hardened with Bouin's fixation solution. No malformation were found in the eviscerated group. Resorption of 1.11 % fetuses and 1.11 % growth failure fetuses showed by extract combination of 100:100 mg/kg body weight. Growth failure of 4.59 % fetuses showed by extract combination of 500:500 mg/kg body weight. Resorption of 0.96 % fetuses showed by extract combination of 1000:1000 mg/kg body weight. The conclusion of this study, is that the combination of turmeric and garlic extract of 100:100 mg/kg body weight, which is equivalent to usual dose in human showed safe as herbal medicine, while in higher dose it is not recommended for pregnant woman.

Keywords : garlic, turmeric, teratogenic test

Pendahuluan

Di berbagai daerah di Indonesia, banyak digunakan obat tradisional untuk mengatasi masalah kesehatan. Obat tradisional ini digunakan secara turun temurun dan khasiatnya sudah terbukti secara empirik.

Bawang putih (*Allium sativum* L.) dan kunyit (*Curcuma domestica* Val.) merupakan contoh obat tradisional yang banyak digunakan masyarakat Indonesia karena memiliki berbagai macam khasiat. Bawang putih memiliki khasiat sebagai antibakteri, antifungi, antelmintik, antihipertensi, antiagregasi platelet, antioksidan, dan memiliki efek hipoglikemik.^{1,2} Kunyit berkhasiat

sebagai antiinflamasi, obat radang dinding lambung dan gangguan pencernaan, antioksidan, antiaterosklerosis, antiagregasi platelet, anti-diabetes, dan menurunkan kadar kolesterol serum,^{1,3}

Dari hasil penelitian, kombinasi ekstrak umbi lapis bawang putih dan rimpang kunyit dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit dan mampu menurunkan resiko aterosklerosis serta memiliki aktivitas antiagregasi dan antiperoksidasi kolesterol secara *in vitro* pada tikus. Dengan demikian, ekstrak ini dapat digunakan pada pengobatan kelainan pembuluh jantung (aterosklerosis) dan diabetes melitus.⁴

¹ elin@fa.itb.ac.id

Hasil penelitian lainnya menunjukkan aktivitas kombinasi ekstrak umbi lapis bawang putih dan rimpang kunyit sebagai antihiperkolesterolemia pada tikus.⁵ Penelitian pada tahap uji klinik menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak bawang putih dan kunyit dapat memperbaiki profil lipoprotein penderita dislipidemia dan menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes.^{6,7}

Karena penggunaan tanaman / kombinasi tanaman tersebut sangat luas, tidak tertutup kemungkinan penggunaan oleh ibu hamil. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji teratogenik untuk melihat efek samping penggunaan tanaman tersebut.

Teratologi adalah ilmu yang berhubungan dengan penyebab, mekanisme, dan gejala penyimpangan perkembangan struktural atau fungsional selama perkembangan janin.⁸ Uji teratogenik adalah uji yang dirancang untuk mengevaluasi efek khusus suatu zat pada janin yang meliputi perkembangan janin, mulai dari kelainan bentuk (malformasi) yang terutama terjadi pada masa organogenesis, cacat mental, sampai kematian pada janin.

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh kombinasi ekstrak air umbi lapis bawang putih dan ekstrak etanol rimpang kunyit yang diberikan pada periode kritis kehamilan mencit dengan mengamati jumlah janin, jumlah abortus dan adanya cacat fisik pada janin mencit.

Bahan dan Cara

Bahan

NaCl fisiologis, metilen biru, CMC-Na, trimetoprim (PT Meprofarm), kloroform, etanol, kalium hidroksida,

hidrogen peroksida, alizarin merah, gliserin, asam pikrat, formaldehid, asam asetat glasial, asam sulfat, toluena, etil asetat, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, serbuk Mg, amil alkohol, Na-asetat, FeCl₃, larutan gelatin, NaOH, larutan amonia 25 %, eter, dan pereaksi Liebermann- Burchard.

Alat yang digunakan adalah kaca objek, mikroskop, sonde oral, peralatan bedah, kaca pembesar, pinset, pisau silet, pipa kapiler, krus silikat, cawan penguap, kertas saring, gelas piala, labu Erlenmeyer, batang pengaduk, pipet tetes, labu bersumbat, tabung reaksi, dan botol timbang.

Hewan uji yang dipakai adalah mencit Swiss-Webster betina dewasa dengan bobot badan 25-35 g yang diperoleh dari Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Cara

Pemeriksaan Kandungan Kimia Ekstrak Bawang Putih dan Kunyit

Pemeriksaan kandungan ekstrak bawang putih dan kunyit meliputi pemeriksaan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan steroid/triterpenoid dengan menggunakan pereaksi khusus.

Karakteristika ekstrak.

Untuk mengetahui standar ekstrak ditentukan kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, susut pengeringan, dan kadar abu total.

Pola Kromatogram

Pemantauan pola kromatogram lapis tipis ekstrak bawang putih dilakukan dengan pengembang butanol-asam asetat glasial-air (4: 3: 3) dan penampak bercak sinar UV λ 366 nm dan H₂SO₄ 10% dalam metanol.

Pemantauan pola kromatogram lapis tipis ekstrak kunyit dilakukan dengan pengembang kloroform-etanol-asam asetat glasial (95: 5: 1) dan penampak bercak sinar tampak dan H₂SO₄ 10 % dalam metanol.^{9,10}

Perlakuan terhadap Hewan Percobaan

Penyiapan Hewan Percobaan

Pada mencit betina, dilakukan pemeriksaan apusan vagina yang sebelumnya ditetesi larutan NaCl fisiologis. Sekret vagina diperiksa pada kaca objek, diwarnai dengan larutan metilen biru lalu diamati di bawah mikroskop. Mencit betina yang berada pada masa subur (ditandai dengan adanya sel tanduk pada apusan vagina) dikawinkan dengan mencit jantan selama satu malam. Hari ke-0 ditentukan saat terjadi sumbat vagina atau adanya sperma pada pemeriksaan apusan vagina keesokan harinya.

Dosis dan Hari Pemberian

Digunakan tiga variasi dosis kombinasi ekstrak bawang putih dan kunyit yaitu 100-100, 500-500, dan 1000-1000 mg/kg bobot badan. Kombinasi ekstrak diberikan pada mencit yang telah hamil secara oral pada hari ke-6 sampai hari ke-15 kehamilan. Kelompok kontrol diberi CMC-Na 0,5 %, dan kelompok pembanding diberi trimetoprim 1000 mg/kg bb.

Pemeriksaan Efek Teratogen

Pada hari ke-18 kehamilan dilakukan pengamatan jumlah janin yang hidup, resorpsi, dan kelainan morfologis. Sepertiga janin dari masing-masing induk direndam dalam larutan alizarin merah untuk pengamatan kerangka dan dua pertiga bagian janin lainnya direndam dalam larutan Bouin

untuk pengamatan organ bagian dalam dan bagian luar.

Pemeriksaan Kerangka Janin

Janin yang telah ditimbang dan difiksasi dalam larutan etanol selama 2 minggu diwarnai kerangkanya untuk memudahkan pengamatan. Kerangka direndam dalam kalium hidrosida 0,5 % selama lebih kurang satu hari, dibilas dengan air dan diwarnai dengan pewarna alizarin merah selama 24 jam dan direndam dalam larutan gliserol 5 %, 20 %, 40 %, 80 %, dan gliserol murni.

Kerangka diamati bagian belakangnya: tulang tengkorak, tulang belakang, dan tulang rusuk diperiksa. Kerangka dibalik lalu diamati bagian depannya: kerangka rongga mulut, tulang yang melingkari bahu dan pinggul, anggota tubuh bagian depan, dan anggota tubuh bagian belakang.

Pemeriksaan Organ Janin

Setelah janin difiksasi dalam larutan Bouin selama 1-2 minggu, janin diangkat, dikeringkan dengan kertas tisu, kemudian disayat dengan pola tertentu. Kepala bagian atas di antara kedua rahang dan di sebelah bawah telinga dipotong dengan pisau silet, dan permukaan langit-langit diperiksa. Kemudian permukaan langit-langit diletakkan di sebelah bawah dan sayatan melintang kepala dibuat dari hidung berurutan ke arah belakang dengan jarak maksimum 1 mm. Sayatan direndam dalam air, kemudian organ di dalam rongga perut dikeluarkan secara hati-hati.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan kandungan kimia ekstrak air bawang putih menunjukkan hasil positif terhadap pengujian golongan senyawa flavonoid

dan steroid/triterpenoid sedangkan pada ekstrak etanol kunyit, hasil positif ditunjukkan pada pengujian golongan senyawa flavonoid, kuinon, dan steroid/triterpenoid (Tabel 1).

Karakterisasi ekstrak bertujuan untuk mengetahui spesifikasi ekstrak yang digunakan. Spesifikasi ekstrak ini penting dalam penggunaan ekstrak sebagai bahan baku obat. Karakterisasi ekstrak yang dilakukan meliputi penetapan kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, susut pengeringan, dan kadar abu (Tabel 2).

Pengujian senyawa identitas dan pemantauan pola kromatogram ekstrak

dilakukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil KLT ekstrak bawang putih menunjukkan adanya aliin dan hasil KLT ekstrak kunyit menunjukkan adanya senyawa kurkuminoid.

Mencit dipilih sebagai hewan percobaan karena memiliki lama kehamilan yang singkat (18-19 hari), jumlah janin yang dilahirkan banyak, pemeliharaannya mudah dan murah. Selain itu, mencit memiliki masa estrus yang cukup singkat (4-5 hari) dan proses kawin mudah dikenali dari keberadaan sperma pada apusan vagina atau adanya sumbat vagina.¹¹

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak

Golongan senyawa	Ekstrak	
	Bawang putih	Kunyit
Alkaloid	-	
Flavonoid	+	+
Kuinon	-	+
Saponin	-	-
Tanin	-	-
Steroid/Triterpenoid	+	+

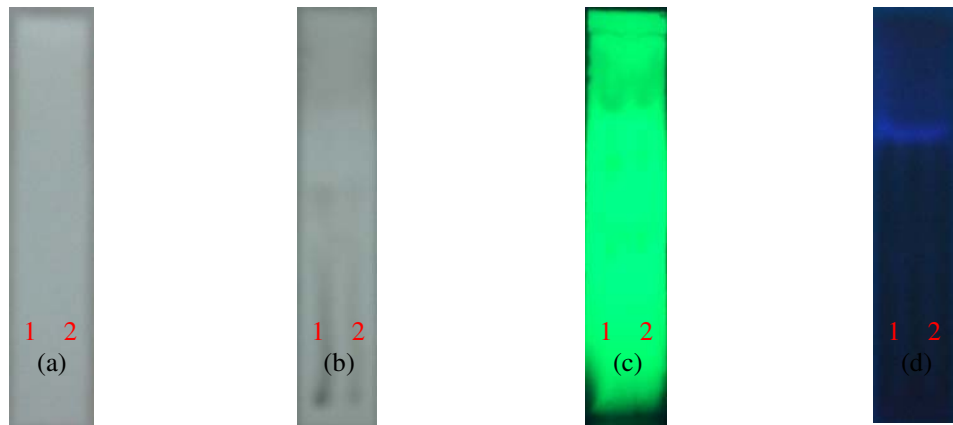
Keterangan : + = ekstrak mengandung golongan senyawa tersebut

- = ekstrak tidak mengandung golongan senyawa tersebut

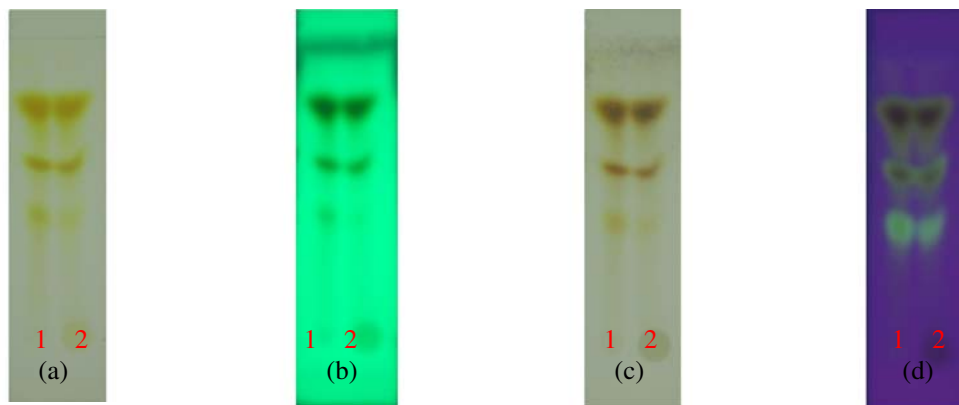
Tabel 2. Hasil Karakterisasi Ekstrak *)

Karakteristik	Bawang putih	Kunyit
Kadar air (% v/b)	6,05	2,55
Kadar sari larut air (% b/b)	78,17	70,63
Kadar sari larut etanol (% b/b)	0,32	11,63
Susut pengeringan (% b/b)	10,32	3,31
Kadar abu (% b/b)	3,30	0,23
Kandungan senyawa identitas (%)	3,25 (aliin)	20,95 (kurkuminoid)

*) Data diperoleh dari *Certificate of Analysis* dari perusahaan pembuat ekstrak (Finzelberg dan PT Phytochemindo Reksa).



Gambar 1. Pola Kromatogram Ekstrak Bawang Putih Dengan Pengembang Butanol: Asam Asetat Glisial: air (4: 3: 3). 1 = bercak ekstrak, 2 = bercak pembanding aliin, (a) sinar tampak, (b) sinar tampak setelah disemprot asam sulfat 10 % dalam metanol, (c) UV λ 254 nm, (d) UV λ 366 nm.



Gambar 2. Pola Kromatogram Ekstrak Etanol Kunyit Dengan Pengembang Kloroform-Etanol-Asam Asetat Glisial (95 : 5 : 1). 1 = bercak pembanding kurkumin, 2 = bercak ekstrak, (a) sinar tampak, (b) sinar tampak setelah disemprot asam sulfat 10% dalam metanol, (c) UV λ 254 nm, (d) UV λ 366 nm.

Pemeriksaan janin dilakukan dengan mengeluarkan janin pada hari ke-18 kehamilan dengan cara laparotomi. Hal ini dilakukan karena mencit yang melahirkan secara spontan cenderung memakan keturunannya

yang cacat, mati, atau hampir mati¹², sehingga dapat mempengaruhi hasil perhitungan data. Selain itu, dengan dilakukannya laparotomi, jumlah resorpsi dan janin yang tidak tumbuh dapat diamati (Tabel 3).

Dari pengamatan bobot badan janin, terlihat bahwa bobot badan janin yang diberi kombinasi ekstrak dan pembanding trimetoprim berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan bobot badan janin kelompok kontrol. Hal ini mungkin disebabkan perbedaan jumlah anak yang dikandung oleh masing-masing induk mencit.

Untuk melihat adanya kelainan rangka janin, digunakan pewarna alizarin merah. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah dan kelainan yang mungkin terjadi pada proses pembentukan tulang. Susunan dan jumlah rangka tulang belakang yang normal adalah 7 tulang servikal, 13 tulang torakal, 6 tulang lumbal, 4 tulang sakral, dan 2-3 tulang kaudal. Jumlah normal ruas tulang anggota tubuh

depan adalah 5 ruas tulang distal, 4 ruas tulang proksimal, 4 ruas tulang tangan (metakarpal) sedangkan pada anggota tubuh bagian belakang adalah 5 ruas tulang distal, 4 ruas tulang proksimal, dan 5 ruas tulang kaki (metatarsal). Dari hasil pengamatan, tidak ditemukan adanya kelainan rangka baik pada kelompok kombinasi ekstrak maupun pada kelompok pembanding (Tabel 4 dan 5).

Hasil pengamatan pada organ bagian dalam janin menunjukkan adanya perbedaan ukuran ginjal pada trimetoprim 1000 mg/kg bobot badan sebesar 1,52%. Organ lain seperti hidung, mata, tangan, kaki, ekor, usus, testes, ovarium, hati, paru-paru, dan jantung tidak menunjukkan kelainan.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Janin

Kelompok dosis	Jumlah induk	Jumlah janin hidup	Jumlah janin resorpsi	Jumlah janin yang tidak tumbuh	Bobot badan rata-rata janin (g)	p
Kontrol (CMC-Na 0,5 %)	10	116 (100 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0,92 ± 0,21	
Bawang putih: kunyit (100: 100 mg/kg bb)	10	88 (97,78 %)	1 (1,11 %)	1 (1,11 %)	1,28 ± 0,18	0,001
Bawang putih: kunyit (500: 500 mg/kg bb)	10	104 (95,41 %)	0 (0 %)	5 (4,59 %)	1,19 ± 0,16	0,005
Bawang putih: kunyit (1000: 1000 mg/kg bb)	10	103 (99,04 %)	1 (0,96 %)	0 (0 %)	1,25 ± 0,12	0,001
Trimetoprim (1000 mg/kg bb)	10	98 (93,10 %)	8 (6,90 %)	0 (0 %)	1,31 ± 0,18	0,000

Tabel 4. Hasil Pengamatan Kerangka (Vertebra) Janin

Kelompok	Jmlh total janin	Jmlh janin yang diamati	Kejadian kelainan vertebra (%)			
			Servikalis	Torakalis	Lumbalis	Sakrokaudalis
Kontrol (CMC-Na 0,5 %)	116	39	0	0	0	0
Bawang putih: kunyit (100: 100 mg/kg bb)	88	30	0	0	0	0
Bawang putih: kunyit (500: 500 mg/kg bb)	104	34	0	0	0	0
Bawang putih: kunyit (1000: 1000 mg/kg bb)	103	33	0	0	0	0
Trimetoprim (1000 mg/kg bb)	98	32	0	0	0	0

Tabel 5. Hasil Pengamatan Kerangka (Jumlah Ruas Tulang Anggota Tubuh Depan dan Belakang) Janin

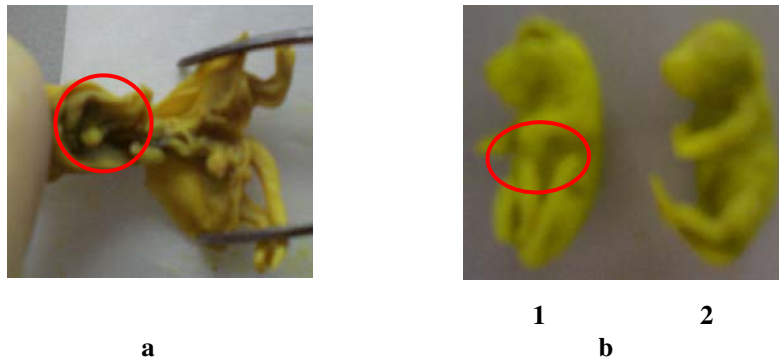
Kelompok	Jumlah total janin	Jumlah janin yang diamati	% janin dengan kelainan jumlah tulang anggota tubuh yang teramati					
			Ruas tulang jari anggota tubuh depan			Ruas tulang jari anggota tubuh belakang		
			Distal	Proksi-mal	Meta-karpal	Distal	Proksi-mal	Meta-tarsal
Kontrol (CMC-Na 0,5 %)	116	39	0	0	0	0	0	0
Bawang putih: Kunyit (100: 100 mg/kg bb)	88	30	0	0	0	0	0	0
Bawang putih: kunyit (500: 500 mg/kg bb)	104	34	0	0	0	0	0	0
Bawang putih: kunyit (1000: 1000 mg/kg bb)	103	33	0	0	0	0	0	0
Trimetoprim 1000 mg/kg bb)	98	32	0	0	0	0	0	0

Pada kelompok yang diberi ekstrak bawang putih: kunyit (500:500) mg/kg bb, 1 dari 92 janin yang diamati menunjukkan adanya bagian penutup kepala yang tidak terbentuk sehingga otak terlihat dari luar. Namun, kelainan yang sama juga ditemukan dalam kelompok kontrol (CMC-Na 0,5 %) sehingga hal ini tidak dapat disebut

sebagai kecacatan (Gambar 4). Terjadinya kelainan ini mungkin disebabkan oleh adanya kelainan gen pada induk mencit atau terjadi malformasi secara spontan.¹¹ Besar ginjal kiri dan kanan berbeda pada kelompok trimetoprim yang menunjukkan efek teratogenik (Gambar 4).



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Kerangka Janin. 1= kontrol (CMC-Na 0,5 %), 2= ekstrak bawang putih: kunyit (100:100 mg/kg bb), 3= ekstrak bawang putih: kunyit (500:500 mg/kg bb), 4= ekstrak bawang putih: kunyit (1000:1000 mg/kg bb), 5= trimetoprim (1000 mg/kg bb).



Gambar 4. Kelainan yang Terdapat pada Pengamatan Organ Janin

Ket:

- a : perbedaan ukuran ginjal kiri dan kanan pada kelompok trimetoprim,
- b : 1 kelainan kepala: dengan penutup kepala terbentuk sebagian dan ada benjolan pada kelompok kombinasi kunyit-bawang putih 500:500 mg/kg bb dan kelompok kontrol, 2 janin normal.

Simpulan

Gangguan pada perkembangan janin mencit Swiss-Webster akibat pemberian kombinasi ekstrak air umbi lapis bawang putih dan ekstrak etanol rimpang kunyit tidak berbanding lurus dengan peningkatan dosis. Pada dosis kombinasi kedua ekstrak 100-100 mg/kg bobot badan yang setara dosis pemakaian untuk orang dewasa tidak menyebabkan kelainan pada organ, tetapi diamati adanya resorpsi janin sebanyak 1,11% sehingga pemakaian pada ibu hamil harus hati-hati.

Ucapan Terima Kasih.

Terima kasih kepada PT Innogene Kalbiotech yang telah membantu dana penelitian.

Daftar Pustaka

1. WHO Collaborating Center for Quality Assurance of Essential Drugs. Prosedur Operasional Baku Uji Toksisitas. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan RI, 1991; 39-44, 120-144.
2. Ebadi M. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. 2nd ed. New York: Taylor & Francis, 2006; 477-479, 483-487.
3. Packer L., Ong C. N., Halliwell B. Herbal and Traditional Medicine: Molecular Aspects of Health. New York: Marcel Dekker, 2004; 787-795.
4. Subiakto, Y. Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Bulbus Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Fungsi Hati dan Ginjal serta Histologi Organ Tikus. Bandung: ITB, 2005; 1, 9-10. Tesis Magister.
5. Saputri FC. Studi Efek Ekstrak Bulbus Bawang Putih (*Allium sativum* Linn.) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Profil Lipoprotein dan Glukosa Model Hewan Hiperkolesterolemia dan Diabetes. Bandung: ITB, 2004; 14-16, 34. Tesis Magister.
6. Patonah. Kajian Pengaruh Kombinasi Ekstrak Bulbus Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Profil Lipoprotein Penderita Dislipidemia yang disertai Diabetes Mellitus Tipe 2, Bandung: ITB, 2007; 28-30. Tesis Magister.
7. Mardiyah D. Khasiat Penurunan Kadar Glukosa Darah Kombinasi Ekstrak Bulbus Bawang Putih dan Rimpang Kunyit pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 yang Disertasi Dislipidemia. Bandung. ITB, 2007; 27-30. Tesis Magister.
8. Wilson JG. Environment and Birth Defects. New York: Academic Press, 1973; 4, 6-8, 11-34, 84-96, 114-116.
9. Rustyawati. Perbandingan Kadar Kurkumin, Demetoksikurkumin, dan Bisdemetoksikurkumin dalam Ekstrak Metanol Rimpang *Curcuma domestica* Val. Pada Berbagai Usia. Bandung: ITB, 1991; 8-10, 29, 31, 41. Skripsi.
10. Wagner HS, Bladt S. Plan Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas, 2 ed. Berlin: Spinger, 1996; 188-189, 294-296.
11. Palmer AK. "The Design of Subprimate Animal Studies" Handbook of Teratology: Research Procedures and Data Analysis, vol.4. New York: Plenum Press, 1977; 223
12. Wilson JG, Fraser CF. Handbook of Teratology: General Principles and Etiology, vol 1. New York: Plenum Press, 1977; 49-72.

