

UJI EFEK AGED GARLIC EXTRACT (*Allium sativum* L) TERHADAP WAKTU PERDARAHAN MENCIT PUTIH JANTAN

¹Fajar Sartika Hadi, ¹Yuani Setiawati, ¹Siti Khaerunnisa

¹Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur
Email: fajarsartika16@gmail.com

Abstrak. Bawang putih (*Allium sativum* L) telah digunakan untuk mengobati penyakit sejak ribuan tahun yang lalu seperti hipertensi, infeksi dan bekas gigitan ular. Saat ini, preparat bawang putih yang dikenal sebagai *Aged Garlic Extract* banyak diteliti dalam mengevaluasi efek kardioprotektif penyusunnya yaitu *S-allylcysteine* (SAC). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi SAC dalam menghambat agregasi trombosit melalui pengamatan waktu perdarahan. Penelitian ini dirancang sebagai laboratorium eksperimental dengan rancangan kelompok Pre Test-Post Test secara acak yang dilakukan pada 30 ekor tikus jantan yang terbagi dalam lima kelompok. Perlakuan diberikan pada hari ke 8 sampai hari ke 21, yaitu kelompok K1 (kontrol negatif), kelompok K2 (Clopidogrel Oral Suspension dosis 0,195 mg / 20 g BB), kelompok P1 (*Aged Garlic Extract* dosis 1 mg / 20 g BB), kelompok P2 (AGE dosis 2 mg / 20 g BB), kelompok P3 (AGE dosis 4 mg / 20 g BB). Pengukuran waktu perdarahan dilakukan pada hari ke 0 dan 21. Analisis data menggunakan Uji Normalitas Saphiro-Wilk, Uji Kruskal-Wallis, dan Uji Mann-Whitney. Hasil penelitian ini dengan uji t-paired menunjukkan bahwa tidak ada perubahan signifikan dalam rerata waktu perdarahan pada kelompok K1 ($p = 0,988$), K2 ($p = 0,096$), P2 ($0,053$) dan P3 ($0,335$), sedangkan kelompok P1 menunjukkan perubahan waktu perdarahan dengan nilai signifikansi $p = 0,034$. Uji Kruskal-Wallis setelah perlakuan dan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa hanya ada perbedaan yang signifikan antara kelompok K2 dan kelompok P1, P2 ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Aged Garlic Extract* tidak memperpanjang waktu perdarahan. (JKS 2018; 1: 1-6)

Kata kunci: *Aged Garlic Extract*, waktu perdarahan, agregasi trombosit.

Abstract. Garlic (*Allium sativum* L) has been used for thousands of years to treat many conditions, including hypertension, infections, and snakebites. Currently, garlic preparation named *Aged Garlic Extract* is widely use to evaluates the cardioprotective effect of its constituent *S-allylcysteine* (SAC). This study aims to determine the potential of SAC in inhibiting platelet aggregation through observation time of bleeding. This research is designed as a laboratory experimental with randomized Pre-Test Post Test Control Group Design that conducted on 30 male mice divided into five groups. The treatment was given on the 8th day until the 21st day, ie group K1 (negative control), group K2 (Clopidogrel Oral Suspension dose 0,195 mg/20 g BB), group P1 (*Aged Garlic Extract* dose 1 mg/ 20 g BB), group P2 (*Aged Garlic Extract* dose 2 mg/ 20 g BB), group P3 (*Aged Garlic Extract* dose 4 mg/20 g BB). The measurement of bleeding time on day 0 and 21. Data analysis used Saphiro-Wilk Normality Test, t-paired, Kruskal-Wallis Test, and Mann-Whitney Test. The results of this study with t-paired test showed that there was no significant change in mean time of bleeding in groups K1 ($p=0,988$), K2 ($p=0,096$), P2 ($0,053$) and P3 ($0,335$), while P1 group showed a significant mean time change in bleeding time with value of significance is $p=0,034$. Kruskal-Wallis test after treatment and Mann-Whitney test showed that there were only significant differences between group K2 and group P1, P2 ($p<0,05$). Based on the result of this study show that *Aged Garlic Extract* doesn't prolong the bleeding time. (JKS 2018; 1: 1-6)

Key words : *Aged Garlic Extract*, bleeding time, platelet aggregation

Pendahuluan

Angka kejadian penyakit kardiovaskular tumbuh pada kecepatan yang mengkhawatirkan seluruh dunia. Menurut WHO tahun 2008, 30% penyebab kematian global disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler yang kebanyakan adalah penyakit jantung koroner dan stroke. Pengobatan penyakit kardiovaskuler sangat gencar dilakukan terutama dengan menggunakan herbal sebagai sumber pengobatan alternatif yaitu salah satunya dengan menggunakan bawang putih.¹

Saat ini, terdapat beberapa preparat garlic di pasaran, salah satunya adalah *Aged Garlic Extract* (AGE) yang mengandung *S-allylcysteine* (SAC) merupakan suatu senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai proteksi terhadap infark miokard melalui sifat antioksidan yang menurunkan produk peroksidasi lipid, anti-kanker dan anti-hepatotoksik.² Berdasarkan studi yang telah dilakukan, AGE khususnya senyawa SAC dapat menghambat agregasi platelet, yang mana agregasi platelet merupakan bagian dari mekanisme terjadinya hipertensi. Peran platelet

dalam hipertensi digambarkan dengan adanya agregasi platelet yang berlangsung lama.³

Salah satu obat yang memiliki efek yang sama dengan AGE adalah Clopidogrel Bisulfate yang digunakan untuk mengurangi kejadian aterosklerotik (infark miokard, stroke dan vascular death) yang mempunyai cara kerja yang sama dengan AGE yaitu menghambat agregasi platelet. Sehubungan dengan adanya kesamaan aktivitas antiagregasi platelet antara AGE dan Clopidogrel Bisulfate, kemungkinan dua hal ini memiliki efek samping yang sama yaitu perpanjangan waktu perdarahan pada dosis terapi. Penelitian ini menggunakan dosis yang telah dapat menimbulkan efek antiagregasi platelet mengacu pada studi Santos & Vianna tahun 2005, dosis separuh dari dosis lazim dan dosis dua kali dosis lazim. Hal ini sesuai dengan Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka yang mana dosis yang digunakan adalah beberapa dosis dengan rentang dosis pada faktor perkalian yang tetap.⁴

Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Departemen Farmasi & Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga pada September - Oktober 2017.

Penelitian eksperimental laboratoris ini untuk mengetahui dosis yang menimbulkan efek samping perpanjangan waktu perdarahan pada mencit putih jantan dengan menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan pola *randomized pretest -posttest control group design*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang plastik propilen ukuran 20 cm x 30 cm x 40 cm yang ditutup kawat kasa dengan ukuran 6 mm, alat suntik 1 cc yang ujungnya dimodifikasi (untuk sonde), botol minum, tempat makan dari aluminium, sekam, timbangan digital dan timbangan untuk menimbang berat badan mencit serta alat untuk pemeriksaan waktu pendarahan yaitu lancet, kertas saring, alcohol swab, hand gloves, stopwatch.

Bahan penelitian yang digunakan berupa AGE (Aged Garlic Extract) yang diproduksi di bawah lisensi yang dikeluarkan oleh Departemen Kesehatan Tenaga Kerja dan Kesejahteraan Jepang yang dibuat dengan memotong bawang putih mentah organik (*Allium sativum* L.) lalu direndam dalam etanol cair, dan diekstraksi lebih dari 10 bulan di suhu kamar. Spesifik prosedur dan spesifikasi yang tercantum dalam, dan mematuhi US Pharmacopeia / Alam Formula (USP / NF) untuk ekstrak cairan bawang putih monografi. Penelitian ini menggunakan Clopidogrel dengan dosis 0,195 mg/kg BB. Clopidogrel diberikan dengan cara disonde.

Pada penelitian ini, sampel berjumlah 30 ekor mencit putih jantan (*Mus musculus* L.) yang terbagi menjadi 5 kelompok, dan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit putih jantan (*Mus musculus* L.). Mencit putih jantan diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya yaitu pada K1 (kontrol negatif) hanya diberi makan saja, K2 (Kontrol positif) diberi Clopidogrel Bisulfate sebanyak 0,195 mg sekali sehari (sesuai tabel konversi dosis) dari Laurence.⁵ sedangkan 3 kelompok lainnya diberi makan dan masing-masing diberi AGE dengan dosis yang berbeda berdasarkan dosis AGE yang biasa dikonsumsi oleh manusia yaitu 7,2 gram per hari dan jika dikonversikan ke mencit yaitu pada dosis 2 mg/ 20g BB sehari selama 14 hari sehingga didapatkan perlakuan AGE pada P1 sebanyak 1 mg/ 20 g BB sehari, pada mencit P2 sebanyak 2 mg/20 g BB sehari, dan pada mencit P3 sebanyak 4 mg/20g BB sehari selama 2 minggu per oral.

Hasil Penelitian

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data perhitungan waktu perdarahan sebelum perlakuan kelompok AGE dalam 3 macam dosis serta kelompok kontrol negatif dan positif sebagai berikut (Tabel 1).

Tabel 1. Waktu Perdarahan Sebelum Perlakuan

Sampe Hari ke-0	KN (detik)	KP (detik)	AGE 1 mg (detik)	AGE 2 mg (detik)	AGE 4 mg (detik)
1	1216	1053	302	848	1329
2	788	735	885	948	339
3	699	401	607	261	995
4	441	308	644	475	531
5	536	377	1171	695	622
6	671	628	376	316	548
Rerata ± SD	725±270,2	584±281,9	664±323,6	591±283,7	727±323,6

Tabel 2. Waktu Perdarahan Setelah Perlakuan

Sampel Hari ke-21	KN (detik)	KP (detik)	AGE 1mg (detik)	AGE 2 mg (detik)	AGE 4 mg (detik)
1	1003	938	175	161	209
2	656	1044	277	345	103
3	1417	260	470	169	909
4	237	1035	233	150	168
5	265	1130	429	448	435
6	787	1057	347	416	1121
Rerata $\pm$ SD	727 $\pm$ 450,4	911 $\pm$ 324,6	491 $\pm$ 114,5	282 $\pm$ 137,3	491 $\pm$ 426,4

**Gambar 1.** Grafik Perbandingan Waktu Perdarahan Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Gambar 1 menunjukkan Uji Mann-Whitney dilakukan pada waktu perdarahan hari ke-21 dikarenakan data tidak berdistribusi normal dan dengan uji Kruskal-Wallis telah dipenuhi dengan $p < 0,05$, sehingga didapatkan hasil bahwa perlakuan pemberian AGE berbagai dosis dan Clopidogrel Bisulphate dapat meningkatkan waktu perdarahan.

Tabel 3. Analisis Uji Mann Whitney

Kelompok	P
Clopidogrel & AGE 1 mg	0,025
Clopidogrel & AGE 2 mg	0,016
Clopidogrel & AGE 4 mg	0,078
Kontrol & AGE 1 mg	0,109
Kontrol & AGE 2 mg	0,055
Kontrol & AGE 4 mg	0,262
AGE 1 mg & AGE 2 mg	0,337
AGE 1 mg & AGE 4 mg	1,000
AGE 2 mg & AGE 4 mg	0,522

Hasil uji lanjutan di atas menunjukkan bahwa:

1. Pada kelompok Clopidogrel dan AGE 1mg; 2mg terdapat perbedaan bermakna ($p=0,025$ dan $p=0,016$)

2. Pada kelompok Clopidogrel dan AGE 4 mg tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0,078$)
3. Pada kelompok Kontrol dan AGE 1mg; 2mg; 4mg tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0,109$; $p=0,055$; dan $p=0,262$)
4. Pada kelompok AGE 1 mg & AGE 2 mg; AGE 1 mg & AGE 4 mg; AGE 2 mg & AGE 4 mg tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p=0,337$; $p=1,000$; $p=0,522$)

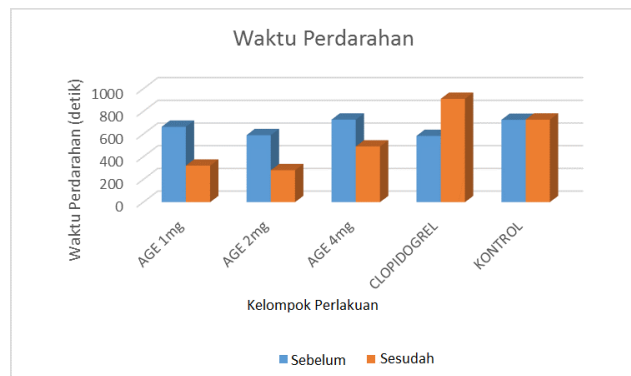
Tabel 4. Analisis Komparasi Waktu Perdarahan Antara Sebelum - Sesudah

Kelompok	Beda Rerata (pre-post)	p
Kontrol Negatif	-2.33	0.988
Clopidogrel	327	0.096
AGE 1 mg	342	0.034
AGE 2 mg	309	0.053

Perlakuan

Berdasarkan uji *t-paired* didapatkan bahwa ada penurunan yang tidak signifikan ($p > 0,05$) perdarahan pada kelompok Kontrol Negatif sebesar 2.33, sedangkan pada kelompok Clopidogrel didapatkan peningkatan yang tidak

signifikan ($p > 0,05$) sebesar 327, kelompok AGE 1 mg didapatkan penurunan yang signifikan ($p < 0,05$) sebesar 342, kelompok AGE 2 mg didapatkan penurunan yang tidak signifikan ($p > 0,05$) sebesar 309, kelompok AGE 4 mg didapatkan penurunan yang tidak signifikan ($p > 0,05$) sebesar 237.



Gambar 2. Grafik Perbandingan Waktu Perdarahan Setelah Perlakuan Antar Kelompok

Gambar 2. menunjukkan bahwa perlakuan pemberian Clopidogrel Bisulfate dapat meningkatkan waktu perdarahan, sedangkan perlakuan pemberian AGE (Aged Garlic Extract) dengan 3 macam dosis yaitu 1mg/20g BB, 2mg/20g BB, dan 4mg/20g BB dapat menurunkan waktu perdarahan.

Pembahasan

Dari keseluruhan analisis didapatkan bahwa AGE tidak menimbulkan efek perpanjangan waktu perdarahan walaupun dalam penelitian terdahulu menunjukkan bahwa AGE memiliki fitur-fitur yang dibutuhkan sebagai anti agregasi platelet.

Hal yang dapat membuat hasil penelitian tidak sesuai dengan teori yang ada adalah efek anti agregasi platelet yang ada pada Aged Garlic Extract (AGE) tidak dipengaruhi oleh besar dosis yang diberikan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Steiner dan Li pada tahun 2001, dosis terendah dari AGE yang diberikan untuk menginduksi epinefrin dan ADP sebagai stimulan yaitu sebesar 2.4 g/ hari menimbulkan efektivitas yang sama dengan dosis tinggi yang diberikan.⁶ Asupan tinggi Aged Garlic Extract (AGE) yaitu 7.2 g/hari tidak menimbulkan efek anti agregasi platelet yang makin meningkat dan hal ini juga berlaku dengan asupan AGE dosis 4.8 g/hari keatas. Berdasarkan hal ini maka AGE mempunyai sifat non dose dependent dimana efektivitasnya tidak dipengaruhi oleh besarnya dosis.

Selain itu AGE juga diketahui dapat mengurangi faktor risiko dari penyakit kardiovaskular yaitu dapat mengurangi level total kolesterol, LDL dan tekanan darah dalam kurun waktu konsumsi selama 6 bulan sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya⁷ sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian Aged Garlic Extract (AGE) dalam kurun waktu 2 minggu (sub akut) belum dapat memberikan efek samping yang signifikan dalam meningkatkan waktu perdarahan. Berdasarkan hal tersebut maka tidak munculnya efek samping perpanjangan waktu perdarahan yang diperoleh dari uji efek Aged Garlic Extract (AGE) terhadap waktu perdarahan pada mencit putih jantan dapat juga terjadi karena pemberian perlakuan 2 minggu (sub akut) yang tergolong singkat.

Penelitian serupa juga dilakukan oleh Allison *et al.* bahwa AGE dapat menghambat proses agregasi platelet secara in vitro dimana dalam studi tersebut ditemukan senyawa dalam plasma yang merupakan turunan dari AGE.⁸ Pada penelitian yang dilakukan oleh Morihara dan Hino, AGE tidak menimbulkan efek pada waktu perdarahan secara in vivo walaupun AGE dikenal sebagai suplemen yang mempunyai banyak efek medis.⁹ Macan *et al.* menunjukkan bahwa AGE relatif aman dan tidak menimbulkan risiko perdarahan pada pasien yang menerima terapi antikoagulan Warfarin per oral. Berdasarkan hal tersebut maka AGE menyebabkan perpanjangan waktu perdarahan pada studi in vitro, lain halnya pada studi in vivo.¹⁰

Berdasarkan berbagai pernyataan tersebut, tidak terjadinya peningkatan waktu perdarahan pada kelompok mencit yang diberi perlakuan Aged Garlic Extract pada dosis yang berbeda dibandingkan dengan kontrol positif yang diberi perlakuan Clopidogrel dalam penelitian ini dapat terkait dengan adanya, AGE yang bersifat *non dose dependent* dan AGE menyebabkan perpanjangan waktu perdarahan pada studi in vitro, lain halnya pada studi in vivo sehingga dalam penelitian ini pemberian AGE selama 2 minggu dengan dosis 1 mg/ kg BB, 2 mg/kg BB dan 4 mg/kg BB tidak menimbulkan efek perpanjangan waktu perdarahan.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *Aged Garlic Extract* (AGE) dosis 1 mg/ 20 g BB, 2 mg/20 g BB dan 4 mg/20 g BB tidak terdapat peningkatan waktu perdarahan, namun terjadi penurunan waktu perdarahan yang bermakna pada dosis 1 mg/20 g BB. Pemberian *Aged Garlic Extract* (AGE) dosis 1 mg/ 20 g BB, 2 mg/20 g BB dan 4 mg/20 g BB tidak menimbulkan perbedaan waktu perdarahan yang bermakna dan pemberian *Aged Garlic Extract* (AGE) dosis 1 mg/ 20 g BB dan 2 mg/ 20 g BB dibandingkan dengan Clopidogrel menimbulkan perbedaan waktu perdarahan.

Daftar Pustaka

- Hermann M, Flammer A, Luescher TF. 2006. Nitric oxide in hypertension. *J Clin Hypertens* (Greenwich). 8 (12 suppl 4): 17-29.
- Gruhlke, M.C.H.; Nwachukwu, I.; Arbach, M.; Anwar, A.; Noll, U.; Slusarenko, A.J. 2011. Allicin from garlic, effective in controlling several plant diseases, in a reactive sulfur species (RSS) that pushes cells into apoptosis. In *Modern Fungicides and Antifungal Compounds VI*; DPG Publishers: Braunschweig, Germany. pp. 325–334.
- Allison GL, Lowe GM, Rahman K. 2012. Aged garlic extract inhibits platelet activation by increasing intracellular cAMP and reducing the interaction of GPIIb/IIIa receptor with fibrinogen. *Life Sci*. 91:1275–1280
- M. Steiner, W. Li. 2001. Aged garlic extract, a modulator of cardiovascular risk factors: a dose-finding study on the effects of AGE on platelet functions. *J Nutr*, 131 (3s). pp. 980S–984S
- Steiner M, Lin RS. 1998. Changes in platelet function and susceptibility of lipoproteins to oxidation associated with administration of aged garlic extract. *J Cardiovasc Pharmacol* 31:904–908
- Han X, Fiehler R, Broze GJ. 2000. Characterization of the protein Z-dependent protease inhibitor. *Blood*. 96:3049-55.
- Blann AD, Nadar S, Lip GYH. 2003. Pharmacological Modulation of Platelet Function in Hypertension.. doi:10.1161/01.HYP.0000077901.84467.E1.
- Fry, F.H.; Okarter, N.; Baynton-Smith, C.; Kershaw, M.J.; Talbot, N.J.; Jacob, C. 2005. Use of a substrate/alliinase combination to generate antifungal activity in situ. *J. Agric. Food Chem*. 53, 574–580.
- Morihara N, Hino A, Yamaguchi T, Suzuki J 2016. Aged garlic extract suppresses the development of atherosclerosis in apolipoprotein E-Knockout mice. *J Nutr* 146:460S–463S
- Macan H, Uykim pang R, Alconcel M, Takasu J, Razon R, Amagase H, Niihara Y . 2006. Aged garlic extract may be safe for patients on warfarin therapy. *J Nut* 136:793S–795S