

# Krim Ekstrak Etanol Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum*) Menghambat Penebalan Epidermis Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar Sinar Ultraviolet-B

Evaldo Wiyoko Wibisono<sup>1</sup>, IGA Dewi Ratnayanti<sup>2</sup>, IG Kamasan Nyoman Arijana<sup>2</sup>, Ni Made Linawati<sup>2</sup>

## Abstrak

Paparan sinar ultra violet (UV) yang membentuk suatu radikal bebas pada kulit merupakan salah satu faktor terjadinya *photoaging*. Bawang putih tunggal (*Allium sativum*) mengandung senyawa antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas. **Tujuan:** Menentukan pengaruh krim ekstrak bawang putih tunggal terhadap ketebalan epidermis tikus wistar yang dipapar sinar UV-B. **Metode:** Penelitian ini menggunakan sampel 30 ekor tikus wistar jantan, 150-200 gram, usia 3-4 bulan. Pengelompokan sampel dilakukan secara acak menjadi 6 kelompok, yaitu K1 sebagai kontrol (hanya dipapar sinar UV-B), K2 (parasol), K3 (plasebo), K4 (krim ekstrak 5%), K5 (krim ekstrak 10%), K6 (krim ekstrak 20%). Seluruh kelompok diberikan paparan sinar UV-B mulai dari dosis 50 mJ/cm<sup>2</sup> pada minggu I dengan durasi paparan 50 detik, 70 mJ/cm<sup>2</sup> pada minggu II dengan durasi paparan 70 detik, 80 mJ/cm<sup>2</sup> pada minggu III dan IV dengan durasi paparan 80 detik. Ketebalan epidermis diukur menggunakan *software image raster*. **Hasil:** Penelitian ini menunjukkan signifikansi perbedaan ketebalan epidermis yang berbeda-beda antara masing-masing kelompok ( $P < 0.05$ ). Rerata ketebalan epidermis K1 sebesar 32,59 ± 4,21 µm, K2 sebesar 26,87 ± 6,38 µm, K3 sebesar 30,34 ± 4,30 µm, K4 sebesar 25,08 ± 5,77 µm, K5 sebesar 21,25 ± 4,00 µm, dan K6 sebesar 19,90 ± 4,19 µm. **Simpulan:** Pemberian krim ekstrak bawang putih tunggal (*Allium sativum*) pada dosis tertentu mampu menghambat penebalan epidermis tikus wistar jantan yang dipapar sinar UV-B.

**Kata kunci:** Bawang Putih Tunggal, Ketebalan Epidermis, Sinar Ultraviolet-B

## Abstract

*Ultra Violet (UV) exposure that forms a free radical on the skin is one of the factors causing photoaging. Single garlic (Allium sativum) has an antioxidant compound that can neutralize free radicals. Objectives: To determine the effects of single garlic extract cream on the epidermal thickness in Wistar rats after UV-B exposure. Methods: This study was carried out among 30 Wistar rats, 150-200 grams, aged 3-4 months which divided into six groups as follows: K1 as control (only exposed to UV-B), K2 (parasol), K3 (placebo), K4 (5% extract cream), K5 (10% extract cream), and K6 (20% extract cream). The UV-B dosage applied for each group starting from 50 mJ/cm<sup>2</sup> in the first week with 50 seconds of the duration exposure, 70 mJ/cm<sup>2</sup> in the second week with 70 seconds of duration exposure, 80 mJ/cm<sup>2</sup> at third and fourth week with 80 seconds of duration exposure. Epidermal thickness was calculated by direct measurement using Image Raster software. Results: There was a significant difference in the epidermal thickness among groups ( $P < 0.05$ ). The mean of epidermal thickness in the control group (K1) was 32,59 ± 4,21 µm, followed by group (K2) was 26,87 ± 6,38 µm, group (K3) was 30,34 ± 4,30 µm, group (K4) was 25,08 ± 5,77 µm, group (K5) 21,25 ± 4,00 µm, and group (K6) 19,90 ± 4,19 µm. Conclusion: The extract cream of single garlic (Allium sativum) in different doses suppressed epidermal thickness in Wistar rats after UV-B exposure.*

**Keywords:** single garlic, epidermis thickness, ultraviolet-B light

**Afiliasi penulis:** <sup>1</sup>Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali.

<sup>2</sup>Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana, Denpasar, Bali

**Korespondensi:** Fakultas Kedokteran, Universitas Udaya. Email: [infok@unud.ac.id](mailto:infok@unud.ac.id) Telp: (0361) 222510

## PENDAHULUAN

Penuaan didefinisikan sebagai suatu proses alamiah yang tidak dapat dihindari, namun dapat diperlambat. Efek penuaan terlihat jelas melalui perubahan yang terjadi pada kulit.<sup>1</sup> Kulit merupakan organ tunggal terbesar dalam tubuh yang membentuk 15-20% berat badan total pada dewasa dengan luas permukaan sebesar 1,5-2 m<sup>2</sup>. Struktur kulit terbagi atas tiga lapisan, yaitu lapisan epidermis, dermis, dan hipodermis.<sup>2</sup> Terdapat dua proses yang erat kaitannya dengan penuaan kulit, yaitu proses intrinsik dan ekstrinsik. Proses intrinsik terjadi secara alamiah sesuai fisiologis tubuh yang terdiri atas faktor genetik, rasial, dan hormonal. Proses intrinsik tidak dapat dicegah, dihindari, atau dihentikan. Proses kedua adalah proses ekstrinsik yang disebabkan oleh faktor eksternal seperti kelembaban udara, kebiasaan merokok, dan paparan sinar ultraviolet (UV).<sup>3</sup> Terdapat empat jenis sinar ultraviolet yang terdiri atas sinar UV-A, UV-B, UV-C, dan UV-D.<sup>4</sup>

Radiasi sinar UV-B dapat menembus dan merusak hingga lapisan dermis sebesar 20-50 kali lebih efisien dibandingkan dengan sinar UV-A.<sup>4</sup> Radiasi sinar UV-B memicu terbentuknya radikal bebas pada lapisan epidermis.<sup>5</sup> Adanya paparan sinar UV-B memicu keratinisasi pada epidermis yang berlangsung lebih cepat. Radikal bebas yang terbentuk pada epidermis menyebabkan terjadinya hiperplasia pada epidermis sehingga epidermis akan terlihat lebih tebal dibandingkan dengan ketebalan epidermis normal. Ketebalan epidermis merupakan salah satu penanda terjadinya *photoaging*.<sup>6</sup>

Antioksidan berpotensi untuk menghambat terjadinya penuaan kulit. Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas. Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan akan mempengaruhi penuaan pada kulit. Antioksidan bekerja dengan menghambat proses oksidasi.<sup>1</sup> Bawang putih mengandung senyawa organosulfur berupa senyawa alliin.<sup>7</sup> Alliin dengan

cepat akan menjadi allisin. Salah satu turunan dari allisin adalah dialil trisulfida (DATS) yang mampu berperan sebagai antioksidan.<sup>8</sup> Bawang putih tunggal merupakan varietas bawang putih yang terbentuk secara alami dan ketidaksengajaan karena faktor lingkungan penanaman yang dianggap kurang cocok dengan pertumbuhan dari bawang putih.<sup>9</sup>

Senyawa organosulfur pada bawang putih tunggal merupakan senyawa antioksidan yang dapat dimanfaatkan untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk pada kulit oleh karena paparan sinar UV-B.<sup>8</sup> Melihat potensi yang dimiliki oleh bawang putih tunggal maka penulis tertarik untuk meneliti pengaruh dari krim ekstrak bawang putih tunggal terhadap ketebalan epidermis tikus wistar jantan yang dipapar oleh sinar UV-B.

## METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratorium dengan rancangan *post-test only control group design*. Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dari Mei 2019 sampai dengan Agustus 2019. Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 30 ekor tikus wistar jantan selama empat minggu perlakuan. Perlakuan pada sampel terdiri atas penyinaran sinar UV-B dan pengolesan krim ekstrak etanol bawang putih tunggal. Bawang putih tunggal diperoleh dari Desa Pakisan, Kecamatan Kubu Tambahan, Kabupaten Buleleng, Bali. Sediaan krim pada penelitian ini menggunakan ekstrak etanol sejumlah 100 gram bawang putih tunggal yang dimasukkan ke dalam bahan-bahan pembuatan krim dasar dengan komposisi yaitu asam stearat, trietanolamin, vaselin album, parafin, aquades, dan nipagin. Penyinaran sinar UV-B bersumber dari lampu UV-B tipe Philips uvb-311 nm (pl-s 9w/01) buatan Polandia.

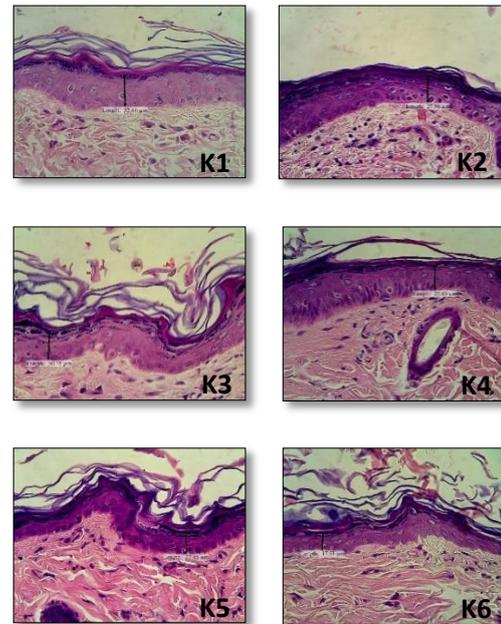
Sampel terpilih dilihat berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi adalah tikus wistar jantan dengan berat 150-200 gram, usia 3-4 bulan, aktif, dan nafsu makan baik. Kriteria eksklusi adalah tikus wistar jantan yang mati selama penelitian dan tikus yang terlihat sakit dan tidak aktif. Pengelompokan sampel dibagi secara acak menjadi enam kelompok. K1 sebagai kelompok kontrol hanya dipapar sinar UV-B, K2 dipapar sinar UV-B dan diberikan krim parasol, K3

dipapar sinar UV-B dan diberikan krim plasebo, K4 dipapar sinar UV-B dan diberikan krim ekstrak bawang putih tunggal 5%, K5 dipapar sinar UV-B dan diberikan krim ekstrak bawang putih tunggal 10%, K6 dipapar sinar UV-B dan diberikan krim ekstrak bawang putih tunggal 20%. Dosis sinar UV-B pada semua kelompok sebesar  $50 \text{ mJ/cm}^2$  pada minggu I dengan durasi paparan 50 detik,  $70 \text{ mJ/cm}^2$  pada minggu II dengan durasi paparan 70 detik,  $80 \text{ mJ/cm}^2$  pada minggu III dan IV dengan durasi paparan 80 detik. Penyinaran diberikan selama 3x/minggu sehingga didapatkan dosis total penyinaran sinar UV-B sebesar  $840 \text{ mJ/cm}^2$ .

Seluruh sampel mendapatkan makanan, minuman, suhu, dan kelembaban udara yang sama dan selalu terkontrol. Setelah 4 minggu perlakuan, tikus wistar jantan diterminasi dan dilakukan biopsi pada lapisan kulit. Lapisan epidermis dengan pengecatan Hematoxylin Eosin (HE) akan diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Melalui metode morfometri diambil tiga lapang pandang dari setiap sampel. Selanjutnya, ketebalan epidermis dari tikus wistar jantan diukur menggunakan *software image raster* dari lapisan basalis hingga lapisan granulosum dengan skala mikrometer ( $\mu\text{m}$ ). Teknik analisis data dilakukan secara komputerisasi. Data statistik deskriptif akan disajikan dalam bentuk rerata  $\pm$  standar deviasi dan uji efek perlakuan menggunakan uji *one way ANOVA*. Analisis statistik dinyatakan bermakna apabila didapatkan  $P < 0,05$ . Penelitian ini telah mendapat izin kelayakan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan nomor surat yang terdaftar adalah 1740/UN14.2.2.VII.14/LP/2019.

## HASIL

Pengamatan ketebalan dari hasil biopsi epidermis kulit tikus wistar jantan diukur menggunakan *software image raster* yang diambil sebanyak tiga lapang pandang pada setiap kelompok. Beberapa contoh pengukuran ketebalan epidermis pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Pengukuran ketebalan epidermis dalam satuan  $\mu\text{m}$  pada keenam kelompok menggunakan *software image raster*

Pengamatan histologis melalui mikroskop cahaya pada perbesaran 400x didapatkan hasil sesuai dengan tabel 1. Rata-rata ketebalan epidermis diukur pada satuan mikrometer ( $\mu\text{m}$ ). Hasil uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk dan uji homogenitas dengan Tes Levene didapatkan seluruh data terdistribusi normal dan homogen. Masing-masing hasil uji menunjukkan nilai  $p > 0,05$ .

**Tabel 1.** Rerata ketebalan epidermis tikus wistar jantan setelah dipapar sinar UV-B

Kelompok	Jumlah Sampel	Rerata $\pm$ SD*	Anova
K1	5	32,59 $\pm$ 4,21	0,000
K2	5	26,87 $\pm$ 6,38	
K3	5	30,34 $\pm$ 4,30	
K4	5	25,08 $\pm$ 5,77	
K5	5	21,25 $\pm$ 4,00	
K6	5	19,90 $\pm$ 4,19	

\*: Satuan  $\mu\text{m}$

Keterangan: K1: Kontrol; K2: Parasol; K3: Plasebo; K4: Krim ekstrak 5%; K5: Krim ekstrak 10%; K6: Krim ekstrak 20%

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok K1 yang merupakan kelompok kontrol memiliki rerata ketebalan epidermis paling rendah. Kelompok dengan rerata ketebalan epidermis paling tinggi adalah kelompok K6 yang diberikan krim ekstrak bawang putih tunggal 20%. Analisis secara statistik pada hasil penelitian ini menggunakan uji *One Way ANOVA*. Tabel 1 menunjukkan perbedaan ketebalan epidermis yang nyata diantara masing-masing kelompok ( $p < 0,05$ ).

## PEMBAHASAN

Paparan sinar UV terutama sinar UV-B menyebabkan proses penuaan yang biasa disebut dengan *photoaging*. Sebesar 90% penuaan kulit terjadi karena efek dari paparan sinar UV. Lapisan epidermis pada kulit mengandung keratinosit yang akan menghasilkan keratin. Epidermis akan mengalami pembaruan melalui proses keratinisasi setiap 15-30 hari. Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa krim ekstrak etanol bawang putih tunggal mampu menghambat penebalan epidermis tikus wistar jantan. Hal ini didapatkan berdasarkan perbandingan dengan ketebalan epidermis normal pada tikus wistar. Tikus wistar normal memiliki ketebalan epidermis sebesar 10-20  $\mu\text{m}$ . Radikal bebas merupakan salah satu faktor yang terdapat pada *photoaging*. Sinar UV-B akan memicu terbentuknya radikal bebas pada epidermis. Penebalan epidermis dapat terjadi karena dimulai dari terbentuknya radikal bebas pada epidermis karena paparan sinar UV-B.<sup>10,11</sup>

Penelitian terdahulu menunjukkan hasil bahwa level senyawa  $\text{H}^2\text{O}^2$  meningkat dua kali lipat pada epidermis kulit yang terpapar sinar UV selama 30 menit, terjadi juga peningkatan aktivasi NADPH Oksidase yang mengkatalisasi reduksi molekul oksigen menjadi  $\text{OH}^{\cdot}$ .<sup>10,12</sup> Radikal bebas tersebut menginduksi keratinosit sehingga proliferasi keratinosit akan meningkat yang menyebabkan terjadinya hiperplasia pada epidermis. Hiperplasia membuat epidermis tampak lebih tebal karena tumpukan-tumpukan keratin pada epidermis.<sup>13</sup> Penelitian lainnya menunjukkan bahwa penebalan epidermis akibat radiasi dari sinar UV-B mencapai 12..979 kali lebih besar dibanding ketebalan epidermis normal.<sup>14</sup> Radikal bebas yang terbentuk berupa anion superoksida ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) melalui aktivasi Nicotinamid Adenin Dinukleotid Fosfat (NADPH) Oksidase.<sup>10</sup> Radikal bebas berupa hidrogen peroksida ( $\text{H}^2\text{O}^2$ ) juga akan

terbentuk oleh karena terpicu paparan sinar UV.<sup>15</sup> Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat oksidasi dari molekul oksidan dengan tujuan untuk menetralkan radikal bebas. Antioksidan dapat dibagi berdasarkan banyak klasifikasi. Salah satu pembagian jenis antioksidan adalah berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan endogen dan eksogen. Beberapa contoh antioksidan endogen seperti katalase, GPx, GRd, dan SOD. Sedangkan contoh dari sistem antioksidan eksogen yang didapat dari luar tubuh seperti karotenoid, flavonoid, vitamin C, dan vitamin E.<sup>8</sup>

Bawang putih mengandung senyawa alliin. Ekstraksi pada bawang putih menyebabkan allisin terlepas dan berinteraksi dengan enzim allinase yang kemudian terbentuk senyawa allisin. Senyawa organosulfur pada bawang putih bermanfaat sebagai antioksidan untuk menetralkan radikal bebas.<sup>8,16</sup> Penelitian ini memanfaatkan ekstrak bawang putih tunggal dengan kandungan senyawa antioksidan sebagai krim topikal. Kandungan senyawa antioksidan pada bawang putih tunggal lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan yang terdapat pada bawang putih majemuk.<sup>17</sup> Kandungan dari bawang putih tunggal yang dimanfaatkan sebagai antioksidan adalah DATS. Dialil trisulfida merupakan salah satu turunan senyawa dari allisin yang memiliki peran untuk meningkatkan aktivitas glutasi peroksida (GPx) dan glutasi transferase (GSt). Meningkatnya aktivitas enzim GPx dapat menetralkan radikal bebas  $\text{H}^2\text{O}^2$ .<sup>8</sup> Penelitian lainnya terkait dengan bawang putih tunggal menunjukkan bahwa kandungan antioksidan pada bawang putih tunggal mampu meningkatkan ekspresi gen dari mRNA sirtuin 6.<sup>18</sup> Sirtuin 6 merupakan protein yang mampu melawan radikal bebas dan menahan dari adanya kerusakan pada DNA. Aktivitas deasetilase pada SIRT6 secara molekuler berfungsi pada aspek yang terkait pada penuaan, seperti stabilisasi dan pemeliharaan telomer, perbaikan pada ekspresi gen dan kerusakan DNA.<sup>19,20</sup> Krim ekstrak bawang putih tunggal 20% lebih efektif menghambat terjadinya penebalan epidermis dari tikus wistar jantan yang dipapar sinar UV-B dibandingkan dengan kelompok dengan pemberian krim ekstrak dosis 5% dan 10%. Tetapi, krim ekstrak bawang putih tunggal dengan dosis 5% dan 10% lebih efektif apabila dibandingkan dengan pemberian parasol karena rata-rata ketebalan epidermis yang lebih tipis pada hasil penelitian ini.

Perbandingan krim topikal dengan bahan aktif juga menunjukkan rerata ketebalan epidermis yang lebih tipis dibandingkan baik dengan kelompok kontrol maupun kelompok plasebo. Hal ini menunjukkan bahwa bahan aktif yang berperan untuk menghambat penebalan epidermis, terutama bahan aktif dari kandungan senyawa antioksidan pada bawang putih tunggal. Penelitian oleh Wardhani menunjukkan bahwa rata-rata ketebalan epidermis yang diberikan krim topikal dengan kandungan bahan aktif antioksidan dan paparan sinar UV sebanyak 3x/minggu selama 3 minggu membuat ketebalan epidermis lebih tipis dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya dipapar sinar UV.<sup>12</sup>

## SIMPULAN

Krim ekstrak bawang putih tunggal bermanfaat untuk menghambat penebalan pada epidermis. Dosis optimal krim ekstrak bawang putih tunggal yang didapatkan pada penelitian ini sebesar 20%. Dibutuhkan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bagaimana mekanisme, efek, dan dosis efektif dari krim ekstrak etanol bawang putih tunggal secara klinis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ramadani M. Upaya penundaan proses penuaan (degeneratif) menggunakan antioksidan dan terapi sulih hormon. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Andalas*. 2010;5(1):36-40.
- Mescher, Anthony L. *Junqueira's basic histology: Text & atlas*. 12th ed. New York: McGraw-Hill; 2010.
- Jusuf NK. Kulit menua. *Majalah Kedokteran Nusantara*. 2005;38(2):184-8.
- Cahyono WE. Dampak peningkatan radiasi ultraviolet B terhadap manusia. *Berita Dirgantara*. 2006;7(1):22-6.
- Borek C. Antioxidant health effect of aged garlic extract. *The Journal of Nutrition*. 2001;131(3):1010S-5S.
- El-Domyati M, Attia S, Saleh F, Brown D, Birk DE, Gasparro F, *et al*. Intrinsic aging vs photoaging: A comparative histopathological, immune histochemical, and ultrastructural study of skin. *Experimental Dermatology*. 2002;11(5):398-405.
- Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, *et al*. Mechanism of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol*. 2002;138(11):1462-70.
- Werdhasari A. Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. 2014;3(2):59-68.
- Lesha KA, Kristina TN, Antari AL. Perbedaan potensi antibakteri bawang putih tunggal dengan bawang putih majemuk terhadap salmonella typhii. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 2018;7(2):415-23.
- Wang SQ, Balagula Y, Osterwalder U. Photoprotection: a review of the current and future technologies. *Dermatol Ther*. 2010;23(1):31-47.
- Mecklenburg L, Kusewitt D, Kolly C, Treumann S, Adams T, Diegel K, *et al*. Proliferative and non-proliferative lesions of the rat and mouse Integument. *Journal of Toxicologic Pathology*. 2013;26(3 Suppl):27S-57S.
- Wardhani MK. Efek penghambatan penuaan epidermis kulit mencit balb/c oleh pandanus conoideus [skripsi]. Universitas Diponegoro; 2007.
- Sumbayak E, Priastini, R Penuaan kulit akibat photoaging. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 2003;11(29):36-45.
- Hassan S, Hussein A, Saeed A. Role of green tea in reducing epidermal thickness upon ultraviolet light-b injury in BALB/c Mice. *Advances in Biology*. 2015;890632:1-6.
- Wahyuningsih, Komang A. Astaxanthin memberikan efek proteksi terhadap photoaging. *Damianus Journal of Medicine*. 2011;10(3):149-60.
- Hernawan UE, Setyawan AD. Review: Senyawa organosulfur bawang putih (*allium sativum* L.) dan aktivitas biologinya. *Biofarmasi*. 2003;1(2):65-76.
- Prasanto D, Riyanti E, Gartika M. Uji aktivitas antioksidan ekstrak bawang putih (*allium sativum*). *Dental Jurnal*. 2017;2(2):122-8.
- Ratnayanti IGAD, Arijana IGKN, Sugiritama IW, Wahyuniari IAI, Linawati NM, Wiryawan IGNS. Single clove garlic extract increase sirtuin 6 mRNA expression in PBMC culture. *Internasional Conference on Pharmscience Research and Development*; 2019 Maret 04-06; Perancis.

- 
19. Beauharnois JM, Bolivar BE, Welch JT. Sirtuin 6: a review of biological effects and potential therapeutic properties. *Molecular Biosystems*. 2013;9(7):1789-806.
20. Frye R. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic sir2-like proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2000; 273 (2):793-8.