

Acute Toxicity Test of Black Garlic Ethanol Extract

Ellen S. Rumaseuw^{1*}, Yoppi Iskandar², Eli Halimah³

¹Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Diploma Tiga Farmasi, STIKes Santo Borromeus, Padalarang, Indonesia

²Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Kab. Sumedang, Indonesia

³Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Indonesia

Submitted 24 January 2022; Revised 14 February 2022; Accepted 21 February 2022; Published 15 April 2022

*Corresponding author: rumaseuwstephanie@gmail.com

Abstract

Indonesia has a diversity of plant species spread throughout the region. Black garlic is a processed garlic product that has gone through an optimal heating process at 70°C for 21 days. Black garlic can be a standardized herb when it has passed quality and safety testing. The purpose of this study was to determine the level of safety of ethanol extract of black garlic. Safety test by means of acute toxicity testing with 5 treatment groups namely negative control, group I (5 mg/kg BW), group II (50 mg/kg BW), group III (300 mg/kg BW), group IV (2000 mg/kg body weight). The research obtained states that the standard parameters of black garlic meet the general standard parameters of Indonesian plants. Giving black garlic ethanol extract caused mild toxic symptoms during observation in the acute toxicity test and obtained an LD₅₀ value > 2000 mg / kg BW which is included in category 4 in the OECD Guidelines for The Testing of Chemicals.

Keywords: Acute Toxicity Test, Black Garlic, Herbal Standarization

Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Bawang Hitam

Abstrak

Negara Indonesia memiliki keberanekaragaman hayati jenis tanaman yang tersebar di seluruh wilayah. Bawang hitam merupakan produk olahan bawang putih yang telah melalui proses pemanasan optimal pada suhu 70°C selama 21 hari. Bawang hitam dapat menjadi herbal terstandar bila telah melalui uji kualitas dan keamanan. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui tingkat keamanan ekstrak etanol bawang hitam. Uji keamanan dengan cara uji toksisitas akut dengan 5 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif, kelompok I (5 mg/kg BB), kelompok II (50 mg/kg BB), Kelompok III (300 mg/kg BB), kelompok IV (2000 mg/kg BB). Penelitian yang diperoleh menyatakan bahwa parameter standar bawang hitam memenuhi parameter standar umum tumbuhan Indonesia. Pemberian ekstrak etanol bawang hitam menimbulkan gejala-gejala toksik ringan selama pengamatan pada uji toksisitas akut dan memperoleh nilai LD₅₀ > 2000 mg/kg BB yang termasuk pada kategori 4 pada OECD Guidelines for The Testing of Chemicals.

Kata Kunci: Bawang Hitam, Standardisasi Herbal, Uji Toksisitas Akut

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki koleksi jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal dalam menunjang tingkat derajat kesehatan. Tanaman asli Indonesia bisa dikonsumsi sebagai obat herbal apabila sudah terbukti aman, berkhasiat dan bermutu.¹ Berdasarkan riwayat penggunaan tanaman, obat herbal dibagi menjadi 2 yaitu obat herbal tradisional dan obat herbal non tradisional. Obat herbal tradisional Indonesia dikenal dengan nama Jamu merupakan warisan budaya bangsa Indonesia secara turun-temurun. Sedangkan, obat herbal non tradisional tidak memiliki riwayat penggunaan turun-temurun, tetapi bermanfaat bagi kesehatan.

Pembagian obat herbal tradisional di Indonesia berupa Jamu, Obat Herbal Terstandar (OHT) serta Fitofarmaka yang memerlukan bukti dukung yang berbeda (empiris, nonklinik dan/atau klinik). Ketiga kelompok tersebut tidak boleh mengandung bahan kimia obat (BKO). Pemanfaatan obat herbal yang digunakan di pelayanan kesehatan harus dapat dipertanggungjawabkan keamanan dan khasiat atau efektivitasnya dengan dilengkapi bukti dukung sesuai dengan klaim.² Salah satu tanaman asli Indonesia yang biasa digunakan sebagai obat herbal adalah bawang putih (*Allium sativum*, L.). Bawang putih banyak digunakan turun-temurun sebagai bahan masakan dan berpotensi untuk mencegah serta menyembuhkan berbagai jenis penyakit.³ Salah satu produk olahan bawang putih yang telah dikonsumsi oleh masyarakat di Asia (Jepang, Cina, Korea, Thailand) selama 10 tahun terakhir yaitu bawang hitam atau *black garlic*.

Tahun 2006 Prof. Dr. Jin Ichi Sasaki, Profesor Universitas Ilmu Kesehatan Hirosaki, Jepang meneliti bahwa bawang hitam memiliki aktivitas sebagai anti tumor. Bawang hitam dikembangkan di Jepang pertama kali pada tahun 1999 oleh seorang warga Jepang bernama Kamimura yang diberikan hak paten dalam pembuatan bawang hitam dari *Japan Paten Office*.⁴ Penelitian bawang hitam sebagai antitumor yang diteliti oleh Prof. Dr.

Jin Ichi Sasaki menjadikan masyarakat Jepang tertarik untuk mengolah sendiri bawang putih menjadi bawang hitam dengan menggunakan alat pemanas sederhana seperti *rice cooker*.⁴ Penelitian oleh Wang, et. al. tahun 2010 pada jurnal *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology* mengatakan bahwa kandungan SAC (*S-Allil-L-Sistein*) pada bawang hitam menurunkan 50% ukuran fibrosarkoma pada mencit. Bawang hitam adalah bawang putih segar (*Allium sativum*, L.) yang telah mengalami proses fermentasi selama periode waktu tertentu pada suhu dan kelembaban tinggi.^{5,6} Bawang hitam memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan cara menurunkan asam tiobarbiturat dan meningkatkan aktivitas enzim superoksida dismutase dan glutathione peroksidase dibandingkan dengan kelompok kontrol,⁷ aktivitas antikanker pada sel U937 leukemia manusia.⁸ Bawang hitam juga dapat menurunkan volume dan berat sel kanker lambung manusia SGC-7901.⁵

Bawang hitam juga dapat menghambat pertumbuhan sel HT29 melalui apoptosis dan penangkapan siklus sel melalui *phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B* (PI3K/Akt) jalur transduksi sinyal.⁹ Bawang hitam memiliki aktivitas antiobesitas yaitu tikus yang diberikan bawang hitam selama 5 minggu dapat menurunkan berat badan, lemak, trigliserida dan meningkatkan kadar HDL dalam darah,¹⁰ aktivitas hepatoprotektor,¹¹ sebagai antiinflamasi,¹² aktivitas antialergi,¹³ dan antidislipidemia.¹⁴

Bawang hitam dapat digunakan sebagai obat herbal terstandar apabila telah memenuhi kriteria seperti mempunyai data keamanan yang dibuktikan secara minimal dengan data toksisitas akut (LD₅₀), data praklinik, serta mutu dinyatakan dengan pemenuhan produk terhadap Farmakope Herbal Indonesia dan sediaan berbentuk formulasi modern.¹⁵

Obat dikatakan aman untuk dikonsumsi apabila tidak membahayakan konsumen. Tiga kategori persyaratan keamanan yang harus terdapat dalam suatu obat antara lain:

1. Kategori I: Obat digunakan dalam jangka waktu panjang
2. Kategori II: Obat aman digunakan

dalam kondisi tertentu (misalnya obat herbal dilengkapi dengan persyaratan tertentu)

3. Kategori III: Obat Herbal yang masih digunakan secara empirik (perlu adanya dokumen keamanan terkait dengan senyawa baru yang terkandung didalamnya)

Data keamanan yang dibutuhkan melalui pengujian toksisitas akut dan kronik.¹⁶ Uji toksisitas adalah uji mendeteksi efek toksik zat serta guna mendapatkan data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang didapatkan untuk mengetahui tingkat keamanan sediaan uji bila terjadi paparan pada manusia, sehingga dapat diketahui dosis keamanan bagi manusia. Paparan suatu zat pada manusia diketahui dengan mempelajari efek kumulatif, dosis efek toksik, efek karsinogenik, teratogenik, mutagenik, dan lain-lain. Efek toksik suatu sediaan dapat diketahui setelah pemberian dosis yang diuji dengan menggunakan uji toksisitas akut, subkronis dan kronik. Uji toksisitas akut adalah uji mengetahui efek toksik yang muncul periode tertentu setelah pemberian sediaan uji dalam dosis tunggal, atau dosis berulang pada periode 24 jam. Uji toksisitas subkronis adalah uji mengetahui efek toksik setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang pada hewan uji selama sebagian umur hewan, tetapi tidak lebih dari 10% seluruh umur hewan. Uji toksisitas kronis adalah uji mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji secara berulang sampai seluruh umur hewan. Berdasarkan beberapa penelitian bawang hitam di atas, maka perlu dilakukan uji toksisitas akut ekstrak etanol bawang hitam sebagai penelitian awal untuk melihat keamanan sediaan uji. Uji toksisitas akut oral

adalah suatu pengujian untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Prinsip uji toksisitas akut oral yaitu, sediaan uji dalam beberapa tingkat dosis diberikan pada beberapa kelompok hewan uji dengan satu dosis per kelompok, kemudian dilakukan pengamatan terhadap adanya efek toksik dan kematian. Hewan yang mati selama percobaan dan yang hidup sampai akhir percobaan diotopsi untuk dievaluasi adanya gejala-gejala toksisitas. Tujuan uji toksisitas akut oral adalah untuk mendeteksi toksisitas intrinsik suatu zat, menentukan organ sasaran, kepekaan spesies, memperoleh informasi bahaya setelah paparan suatu zat secara akut, memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya, memperoleh nilai LD₅₀ suatu bahan/ sediaan, serta penentuan penggolongan bahan/ sediaan dan pelabelan.¹⁷ Hasil toksisitas akut pada hewan uji dapat dievaluasi berdasarkan kriteria bahaya dari GHS (*Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures*) yang terdapat pada *Thirteenth Addendum to The OECD Guidelines for The Testing of Chemicals* (2001), terlihat pada Tabel 1.

2. Metode

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari kandang hewan uji, masker medis 3 Ply (Sensi), sarung tangan medis 60 L (Sensi), timbangan hewan (Mettler-Toledo), timbangan neraca analitik tiga lengan (Ohaus), sonde, sudip, spuit injeksi 3 mL

Tabel 1. Kategori Rentang Toksisitas berdasarkan Nilai LD50

Kategori	Rentang Nilai
Kategori 1	LD50 < 5 mg/kg
Kategori 2	LD50 > 5 mg/kg < 50 mg/kg
Kategori 3	LD50 > 50 mg/kg < 300 mg/kg
Kategori 4	LD50 > 300 mg/kg < 2000 mg/kg
Kategori 5	LD50 > 2000 mg/kg < 5000 mg/kg

dengan jarum suntik oral dengan kecepatan 0,1 mL (Terumo), cawan penguap (Jangkar), *waterbath* (Memmert Type WNB 14 Ring).

2.2. Bahan

Bahan uji yang digunakan yaitu bawang putih (*Allium sativum*, L.) yang diperoleh dari Lembang dan telah dideterminasi oleh Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UNPAD dengan No.053/HB/12/2018, bawang hitam dan ekstrak etanol bawang hitam.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain aquades (Merck), Pulvis Gummi Arabicum (Sales DwiLab Mandiri), etanol 70% (Merck), pakan standar yang dipakai adalah *brailleur-II pellet* (BR-II) yang mengandung jagung, bungkil kedelai, *wheat pollard*, bungkil kelapa, tepung ikan, tepung daging, tepung beras, tapioka, minyak kelapa, dan minyak ikan premix.

2.3. Prosedur Rinci

2.3.1. Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental, yaitu penelitian yang mencari pengaruh variabel tertentu terhadap variabel lain secara ketat terhadap kelompok eksperimental pada berbagai kondisi perlakuan dan membandingkannya dengan kelompok kontrol terhadap mencit putih betina secara *in vivo*.¹⁷

Penelitian dilakukan melalui tahapan eksperimental laboratorium berupa pengumpulan, pengolahan, determinasi tanaman bawang putih, skrining fitokimia, ekstraksi simplisia bawang hitam dengan etanol 70%, dan pengujian toksisitas akut ekstrak etanol bawang hitam pada 25 ekor mencit putih betina galur CBS-Swiss menggunakan metode *fixed dose* serta pengamatan yang dilakukan termasuk pada: kulit, bulu, mata, membran mukosa dan juga sistem pernafasan, sistem syaraf otonom, sistem syaraf pusat, aktivitas somatomotor serta tingkah laku.¹⁷

Rancangan penelitian untuk uji toksisitas akut oral yaitu *Randomized Block Design* (Rancangan Acak Kelompok), dimana hewan uji dipilih secara acak dan memiliki kesempatan

yang sama untuk diberikan perlakuan.

2.3.2. Parameter Kualitas Simplisia

Pemeriksaan parameter kualitas simplisia meliputi: skrining fitokimia, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan kadar air.

2.3.3. Ekstraksi

Pengolahan bawang putih menjadi bawang hitam dilakukan dengan cara 1000 g umbi bawang putih dibungkus dengan aluminium foil dan dipanaskan dalam *rice cooker* bersuhu $\pm 70^{\circ}\text{C}$ selama 21 hari. Sampel bawang hitam dimasukkan ke dalam maserator dan dimaserasi dengan etanol 70% selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Maserasi dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Hasil maserasi berupa ekstrak cair diuapkan dengan alat *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental etanol.

2.3.4. Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas akut oral adalah mencit putih betina galur CBS-Swiss berumur 3-4 bulan dengan berat badan 20-40 g. Hewan uji ini diperoleh dari Pusat Penelitian Antar Universitas Institut Teknologi Bandung (PPAU-ITB). Sebelum memulai penelitian dilakukan pengajuan proposal penelitian pada Komisi Etik Penelitian Universitas Padjadjaran. Surat keterangan lolos kaji etik tercantum pada nomor 528/UN6.KEP/EC/2019. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 25 ekor mencit betina yang dibagi secara acak kedalam 5 kelompok perlakuan. Sebelum digunakan untuk penelitian, semua mencit diadaptasi terlebih dahulu selama kurang lebih satu minggu untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan, dan berat badan serta menyeragamkan makanan.

2.3.5. Penentuan Dosis

Penentuan dosis dilakukan melalui uji pendahuluan untuk mengetahui dosis terbesar yang disondekan kepada mencit. Dosis dibagi menjadi beberapa kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok I (5 mg/kg BB),

kelompok II (50 mg/kg BB), Kelompok III (300 mg/kg BB), kelompok IV (2000 mg/kg BB).

2.3.6. Pengujian Toksisitas Akut

Uji toksisitas akut dengan menggunakan hewan percobaan diperlukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian suatu zat dalam dosis tunggal atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu tidak lebih dari 24 jam; apabila pemberian dilakukan secara berulang, maka interval waktu tidak kurang dari 3 jam. Hasil toksisitas akut dievaluasi berdasarkan kriteria bahaya dari GHS (*Globally Harmonised Classification System for Chemical Substances and Mixtures*) yang tercantum dalam *Thirteenth Addendum to The OECD Guidelines for The Testing of Chemicals* (2001). Kriteria penggolongan menurut OECD (2001) digunakan untuk penentuan kategori toksisitas akut bahan kimia seperti pestisida serta untuk pelabelannya.

3. Hasil

3.4. Parameter Kualitas Simplisia

Proses pengolahan bawang putih sebanyak 1000 g menjadi bawang hitam dilakukan selama 21 hari dengan suhu pemanasan 70°C menggunakan *rice cooker*.

Skrining fitokimia dilakukan dengan

tujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung di dalam bawang hitam. Skrining fitokimia ini menggambarkan golongan senyawa yang terdapat dalam simplisia atau ekstrak tertentu dan merupakan skrining awal untuk memastikan golongan senyawa target terdapat dalam ekstrak yang diperoleh yang terlihat pada Tabel 2.

Parameter kualitas simplisia dilakukan dengan tujuan untuk menjamin agar ekstrak memenuhi standar parameter umum tumbuhan obat Indonesia, terlihat pada Tabel 3.

3.5. Metode Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi selama 3x24 jam.. Maserat yang diperoleh dipekatkan dengan cara evaporasi menggunakan alat *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental yang dilakukan selama 10 hari. Nilai rendemen didapatkan dengan menimbang berat ekstrak kental dibagi dengan berat simplisia dikalikan 100%, sehingga didapatkan rendemen sebesar 49,58%. Hasil ekstraksi ekstrak etanol bawang hitam, terlihat pada Tabel 4.

3.6. Pengujian Toksisitas Akut

Metode *fixed dose* digunakan pada uji toksisitas akut ini untuk bahan uji dengan

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Metabolit Sekunder	Hasil
Alkaloid, Flavonoid, Polifenol, Monoterpenoid, Sesquiterpenoid, Steroid, Triterpenoid	+
Saponin, Kuinon, Tanin	-

Tabel 3. Hasil Parameter Kualitas Simplisia

Parameter	Standar Nilai Kadar (%) menurut Departemen Kesehatan Indonesia (2000) dan Farmakope Herbal Indonesia (2008)	Kadar (%)
Kadar Sari Larut Air	$\pm 5,0$	5,6
Kadar Sari Larut Etanol	$\geq 4,0$	7,6
Kadar Abu Total	$\leq 3,0$	2,8
Kadar Abu Tidak Larut Asam	$\leq 1,0$	0,6
Kadar Air	$\leq 30,0$	8,8

Tabel 4. Hasil Ekstraksi Ekstrak Etanol Bawang Hitam

Simplisia Bawang Hitam	Berat
Berat Simplisia	1000 g
Berat Ekstrak Total	495,84 g
Rendemen	49,58 %

derajat toksisitas sedang dan dosis yang dipilih sebagai uji pendahuluan dengan menggunakan dosis yang tidak menimbulkan kematian, nyeri hebat atau iritatif/korosif. Dosis bertingkat diberikan pada metode *fixed dose* ini yaitu 5, 50, 300, 2000 mg/kg BB (dosis dapat ditambahkan hingga 5000 mg/kg BB). Uji pertama dilakukan dengan memberikan dosis 5 mg/kg BB dan diamati gejala toksik dan kematian selama 24 jam pada mencit betina. Ketika kematian tidak terjadi, maka lanjutkan dengan tingkatan dosis mencapai 2000 mg/kg BB. Hasilnya didapatkan bahwa pemberian dosis hingga 2000 mg/kg BB tidak terjadi kematian dan tidak adanya gejala toksik, terlihat pada Tabel 5.

Dari uji pendahuluan didapatkan dosis tertinggi yang tidak menimbulkan kematian pada hewan uji yakni 2000 mg/kg BB. Sehingga akan dilakukan pengamatan selama 14 hari terhadap dosis tersebut. Hewan uji betina dikelompokkan menjadi lima kelompok dosis yakni empat kelompok dosis perlakuan dan satu kelompok dosis kontrol negatif yang diamati gejala efek toksik dan berat badan selama 14 hari. Hasil gejala efek toksik pada pengamatan 14 hari, terlihat pada Tabel 6.

4. Pembahasan

Proses perubahan bawang putih menjadi bawang hitam melalui proses pemanasan pada suhu $\pm 70^{\circ}\text{C}$ bertujuan agar senyawa

penting yang terkandung dalam umbi bawang putih tidak rusak. Bawang hitam yang sudah jadi kemudian didinginkan. Ketika bawang putih segar mengalami proses pemanasan, bawang putih segar berubah menjadi berwarna hitam, bertekstur seperti jelly dan lengket, memiliki rasa lebih manis dan asam dibandingkan bawang putih segar. Selain itu terjadi perubahan beberapa senyawa bioaktif seperti *S-allilsistein*, vitamin, asam fenolik dan flavonoid dalam bawang hitam yang berlangsung selama proses pemanasan. Selain itu, reaksi *Maillard* telah diakui sebagai faktor utama dalam pembentukan bawang hitam dan dapat menghasilkan berbagai intermediat dan pigmen cokelat dengan berbagai macam potensi aktivitas. Jumlah alliin dalam bawang hitam berkurang delapan kali dibandingkan bawang putih segar. Alasan lain yang memungkinkan penurunan kandungan alliin dalam bawang hitam adalah alliin dikonversi menjadi *S-allilsistein*, *S-allilmerkaptosistein*, arginin dan senyawa lain yang tidak terdefinisi ketika proses pemanasan.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa pada bawang hitam terdeteksi adanya senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid dan triterpenoid.

Hasil parameter kualitas simplisia mulai dari skrining fitokimia, susut pengeringan,

Tabel 5. Hasil Pengamatan Kematian Hewan Uji pada Uji Pendahuluan

Kelompok Dosis Perlakuan (mg/kg BB)	Jumlah Kematian (ekor)	% kematian
5	0	0
50	0	0
300	0	0
2000	0	0
Kontrol Negatif	0	0

Tabel 6. Hasil Pengamatan Kematian Hewan Uji pada Uji Pendahuluan

Pengamatan	Tanda Ketoksikan	Kontrol Negatif	Kelompok Dosis Perlakuan
Sistem Saraf Pusat	Aktivitas Motorik	Normal	Normal
	Aktivitas gelantung	Normal	Normal
	Retablismen	Tidak ada	Tidak ada
	Sikap tubuh	Normal	Normal
	Efek tremor	Tidak ada	Tidak ada
	Konvulsi (kejang)	Tidak ada	Tidak ada
	Straub	Tidak ada	Tidak ada
	Katalepsi	Tidak ada	Tidak ada
	Sedatif	Tidak ada	Tidak ada
	Fleksi	Tidak ada	Tidak ada
	Hafner	Ada	Ada
	Refleks Pineal	Ada	Ada
	Refleks Kornea	Ada	Ada
	Ptoxis	Tidak ada	Tidak ada
	<i>Grooming</i>	Ada	Ada
	Pernapasan	Tidak ada	Tidak ada
Sistem Saraf Otonom	Efek piloereksi	Normal	Normal
	Salivasi	Tidak ada	Tidak ada
	Lakrimasi	Tidak ada	Tidak ada
	Urinasi abnormal	Tidak ada	Tidak ada
	Urinasi abnormal	Tidak ada	Tidak ada

kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan kadar air dibandingkan dengan standar nilai kadar yang telah ditetapkan oleh Farmakope Herbal Indonesia serta Departemen Kesehatan Indonesia dan parameter standar menyatakan bahwa bawang hitam memenuhi parameter standar umum tumbuhan Indonesia.

Metode maserasi dipilih karena merupakan metode efektif dengan tujuan mengekstrak seluruh senyawa metabolit yang larut dalam penyari yang digunakan. Penyari yang digunakan yaitu etanol 70%. Etanol digunakan sebagai penyari karena etanol merupakan pelarut serba guna yang baik digunakan untuk ekstraksi pendahuluan dan dapat melarutkan hampir seluruh metabolit

sekunder yang terkandung dalam simplisia dan bersifat aman. Konsentrasi etanol digunakan sebesar 70% karena simplisia yang digunakan mengandung sedikit air. Proses evaporasi dilakukan agar mengurangi kadar etanol yang mengandung di dalam ekstrak dan mengurangi kadar air sebagai media pertumbuhan mikroba.

Hasil pengamatan pada uji pendahuluan toksisitas akut diperoleh bahwa pemberian ekstrak etanol bawang hitam tidak menimbulkan gejala-gejala toksik selama pengamatan pada uji toksisitas akut sehingga dosis 2000 mg/kg BB belum memberikan ketoksikan pada mencit betina.

Skrining farmakologi dilakukan pada 30 menit, 4, 8, 12, dan 24 jam pertama

serta sehari sekali, setelah itu selama 14 hari. Pengamatan yang dilakukan terdiri atas pengamatan terhadap sistem saraf pusat, yaitu aktivitas motorik, aktivitas gelantung, retablismen, sikap tubuh, efek tremor, konvulsi, straub, katalepsi, sedatif, fleksi, hafner, refleks pineal, refleks kornea, ptosis, grooming atau pernapasan. Kemudian, pengamatan terhadap sistem saraf otonom, yaitu efek piloereksi, salivasi, lakrimasi, urinasi abnormal, dan diare. Dari hasil pengamatan selama 14 hari tidak muncul gejala toksik dan tidak terjadi perubahan tingkah laku hewan uji baik dari pengamatan sistem saraf pusat maupun sistem saraf otonom. Pengujian toksisitas akut yang diteliti menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol bawang hitam menimbulkan gejala-gejala toksik ringan selama pengamatan pada uji toksisitas akut dan memperoleh nilai $LD_{50} > 2000$ mg/kg BB yang termasuk pada kategori 4 pada *OECD Guidelines for The Testing of Chemicals*.

Penelitian ini memiliki keterbatasan informasi terkait tingkat keamanan suatu sediaan. Oleh karena itu penelitian ini dapat dilanjutkan dengan melakukan pengujian toksisitas subkronis memperoleh informasi adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut serta informasi kemungkinan adanya efek toksik setelah pemaparan sediaan uji secara berulang dalam jangka waktu tertentu; informasi dosis yang tidak menimbulkan efek toksik (*No Observed Adverse Effect Level / NOAEL*); dan mempelajari adanya efek kumulatif dan efek reversibilitas zat tersebut dan pengujian toksisitas kronis untuk memperoleh informasi toksisitas secara umum meliputi efek neurologi, fisiologi, hematologi, biokimia klinis dan histopatologi.

5. Kesimpulan

Penelitian yang diperoleh menyatakan bahwa parameter standar bawang hitam memenuhi parameter standar umum tumbuhan Indonesia. Pemberian ekstrak etanol bawang hitam menimbulkan gejala-gejala toksik ringan selama pengamatan pada uji toksisitas akut dan memperoleh nilai $LD_{50} > 2000$ mg/kg BB yang termasuk pada kategori 4 pada

OECD Guidelines for The Testing of Chemicals.

Daftar Pustaka

1. RI K. Formularium Obat Herbal Asli Indonesia. Vol Jkt Kementerian Kesehat RI. 2011;
2. Obat BP, Indonesia MR. Pedoman Uji Klinik Obat Herbal. Jkt BPOM. 2014;
3. Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S, Itakura Y. Intake of garlic and its bioactive components. *J Nutr*. 2001;131(3):955S-962S.
4. Sasaki J-I. Overview of the black garlic movement in the fields of research and marketing. *J Life Sci*. 2015;9:65-74.
5. Wang X, Jiao F, Wang Q-W, Wang J, Yang K, Hu R-R, et al. Aged black garlic extract induces inhibition of gastric cancer cell growth in vitro and in vivo. *Mol Med Rep*. 2012;5(1):66-72.
6. Kimura S, Tung Y-C, Pan M-H, Su N-W, Lai Y-J, Cheng K-C. Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *J Food Drug Anal*. 2017;25(1):62-70.
7. Jeong YY, Ryu JH, Shin J-H, Kang MJ, Kang JR, Han J, et al. Comparison of antioxidant and anti-inflammatory effects between fresh and aged black garlic extracts. *Molecules*. 2016;21(4):430.
8. Park C, Park S, Chung YH, Kim G-Y, Choi YW, Kim BW, et al. Induction of apoptosis by a hexane extract of aged black garlic in the human leukemic U937 cells. *Nutr Res Pract*. 2014;8(2):132-7.
9. Dong M, Yang G, Liu H, Liu X, Lin S, Sun D, et al. Aged black garlic extract inhibits HT29 colon cancer cell growth via the PI3K/Akt signaling pathway. *Biomed Rep*. 2014;2(2):250-4.
10. Ha AW, Ying T, Kim WK. The effects of black garlic (*Allium sativum*) extracts on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. *Nutr Res Pract*. 2015;9(1):30-6.
11. Shin JH, Lee CW, Oh SJ, Yun J, Kang MR, Han S-B, et al. Hepatoprotective effect of aged black garlic extract in rodents. *Toxicol Res*. 2014;30(1):49-54.
12. Kim MJ, Yoo YC, Kim HJ, Shin SK, Sohn EJ, Min AY, et al. Aged black garlic exerts

- anti-inflammatory effects by decreasing no and proinflammatory cytokine production with less cytotoxicity in LPS-stimulated raw 264.7 macrophages and LPS-induced septicemia mice. *J Med Food*. 2014;17(10):1057–63.
13. Yoo J-M, Sok D-E, Kim MR. Anti-allergic action of aged black garlic extract in RBL-2H3 cells and passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice. *J Med Food*. 2014;17(1):92–102.
14. Jung E-S, Park S-H, Choi E-K, Ryu B-H, Park B-H, Kim D-S, et al. Reduction of blood lipid parameters by a 12-wk supplementation of aged black garlic: a randomized controlled trial. *Nutrition*. 2014;30(9):1034–9.
15. Permenkes RI. Formularium obat herbal asli indonesia. Biro Huk Dan Organ Kementrian Kesehat RI. 2016;
16. Organization WH. Guidelines for the regulation of herbal medicines in the south-east asia region: Developed at the regional workshop on the regulation of herbal medicines, Bangkok, 24-26 June 2003, New Delhi: Regional Office for South East Asia. World Health Organ. 2003;
17. BPOM R. Non-clinical toxicity test guidelines in in vivo (Indonesian: Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In vivo). Jkt Badan Pengawas Obat Dan Makanan Repub Indones. 2014;
18. Firmansyah NA. Pengaruh Pemberian Bawang Putih Hitam (Black Allium sativum) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Pada Mencit (*Mus musculus*) [PhD Thesis]. Universitas Muhammadiyah Surabaya; 2019.