

TOKSISITAS AKUT SEDIAAN CAIR BERBASIS BAWANG PUTIH DENGAN METODE ZEBRAFISH EMBRYO TOXICITY (ZFET)

Ike Yulia Wiendarlina, Nina Herlina*, Elsa Mareta
Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Pakuan, Bogor
*Korespondensi penulis: Email:nina.herlina@unpak.ac.id

Diterima : 2 September 2021

Direvisi : 5 Juli 2021

Disetujui : 2 Juni 2021

Copyright © 2022 Universitas Pakuan



FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi is licensed under a
Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License

ABSTRAK

Sediaan cair berbasis bawang putih (SCBBP) terbuat dari campuran beberapa bahan diantaranya yaitu bawang putih tunggal, jahe merah, sari buah lemon, cuka apel, dan madu. Sediaan ini memiliki berbagai khasiat farmakologis, namun belum ada penelitian yang menguji batas keamanan sediaan tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan toksisitas akut dari SCBBP menggunakan metode ZFET (*Zebrafish Embryo Toxicity*) mengacu pada tatalaksana *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD). Embrio diberi paparan SCBBP dengan berbagai konsentrasi (50, 100, 200, 400, 600, 800, 1200, 1600 dan 2000 ppm) mulai dari 8 jam pasca-pembuahan (jpf) hingga 96 jpf. Data abnormalitas dan kematian yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk memperoleh nilai LC₅₀, EC₅₀ dan Indeks teratogen (TI). Hasil pengujian menunjukkan bahwa kelangsungan hidup embrio semakin menurun dengan semakin meningkatnya konsentrasi dan lama paparan SCBBP yang diberikan. Nilai rata-rata LC₅₀ pada 24; 48; 72; dan 96 jpf adalah sebesar 1548 ppm; 1382 ppm; 1247 ppm; dan 1209 ppm, sedangkan nilai EC₅₀ adalah sebesar 418,041 ppm, 306,445 ppm, 417,529 ppm dan 375,622 ppm dan nilai indeks teratogenik (TI) <1. Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa SCBBP termasuk ke dalam kategori relatif tidak berbahaya dan tidak bersifat teratogen terhadap model embrio ikan zebra.

Kata kunci: Sediaan berbasis bawang putih; toksisitas akut; *zebrafish embryo toxicity*

ACUTE TOXICITY OF GARLIC BASED LIQUID PREPARATION WITH ZEBRAFISH EMBRYO TOXICITY (ZFET) METHOD

ABSTRACT

Garlic based liquid preparation is a herbal mixture consisting of solo garlic, red ginger, lemon juice, apple cider vinegar, and honey. This preparation has various pharmacological properties, but the safety has not yet been evaluated. The purpose of this study was to determine the acute toxicity of SCBBP using the ZFET (Zebrafish Embryo Toxicity) method following Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) guidelines No. 236. Embryos were exposed to SCBBP at various concentrations (50, 100, 200, 400, 600, 800, 1200, 1600 and 2000 ppm) starting from 8 hours post-fertilization (jpf) to 96 jpf. Abnormality and mortality data obtained were statistically analysed to obtain the LC₅₀ value. The results showed that the survival of zebrafish embryos decreased as the concentration and duration of exposure SCBBP

increased. The value of LC_{50} at 24 hours; 48; 72; and 96 jpf were 1548 ppm; 1382 ppm; 1247 ppm; and 1209 ppm. The EC_{50} values were 418.041 ppm, 306.445 ppm, 417.529 ppm and 375.622 ppm. The TI obtained is <1 . Based on the research results, it was concluded that SCBBP relatively harmless and not teratogenic on zebrafish embryos models.

Keywords: Garlic based liquid preparations; acute toxicity; zebrafish embryos toxicity.

PENDAHULUAN

Penelitian obat herbal terus berkembang dalam upaya memanfaatkan sumber daya alam Indonesia. Namun, sampai saat ini hanya beberapa penelitian mengenai obat herbal yang dapat digunakan dalam fasilitas kesehatan karena harus memenuhi persyaratan keamanan, manfaat dan terstandar. Hal yang sangat penting yang harus dilakukan ketika menggunakan bahan alam sebagai bahan baku obat adalah dengan mengetahui efek toksik dari senyawa yang dikandungnya. Oleh karena itu, uji toksisitas harus dilakukan untuk memperkirakan tingkat kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh suatu senyawa terhadap material biologi maupun non biologi (Mulyani dkk., 2020).

Obat herbal yang sudah terbukti manfaatnya secara empiris salah satunya adalah sediaan cair berbasis bawang putih (SCBBP). Sediaan ini berupa ramuan herbal yang terbuat dari beberapa bahan diantaranya yaitu bawang putih tunggal, jahe merah, sari buah lemon, cuka apel, dan madu. Masyarakat menggunakan ramuan ini untuk memelihara Kesehatan jantung, menurunkan darah tinggi, menurunkan kadar kolesterol, meningkatkan sistem imun, memperbaiki dan lain-lain. Berdasarkan penelitian terdahulu, SCBBP dilaporkan memiliki efek imunomodulator (Meisya dkk., 2016) dan juga berefek menurunkan kadar kolesterol (Ifora dkk., 2016). Hasil identifikasi fitokimia diketahui bahwa SCBBP mengandung alkaloid, flavonoid, polifenol dan glikosida dan aktivitas antioksidan yang kuat (Wiendarlina dan Sukaesih, 2019).

Banyaknya manfaat dan khasiat SCBBP untuk kesehatan dapat membuka peluang untuk dilakukannya pengembangan menjadi salah satu alternatif pengobatan herbal. Baik dalam skala industri rumah tangga maupun skala industri yang lebih besar. Untuk itu, diperlukan tahapan lebih lanjut dalam pengembangan obat herbal ini salah satunya dengan menguji batas keamanan dengan uji toksisitas akut.

Gold standard untuk memprediksi keamanan pada manusia adalah uji toksisitas pada mamalia. Namun, studi ini kurang cocok untuk prediksi awal karena selain perlu waktu lebih lama, mahal, senyawa yang digunakan lebih banyak, dan juga tidak selalu dapat diprediksi. Oleh karena itu, dapat dilakukan uji toksisitas *in vitro*. Uji ini didesain untuk skrining awal dalam mengidentifikasi zat yang membahayakan dengan waktu cepat, murah dan mudah.

Dalam pengujian ini digunakan embrio ikan zebra (*Danio rerio*) sebagai subjek uji toksisitas secara *in vitro* mengacu pada Metode OECD 236. Ikan zebra menjadi salah satu model hewan yang populer pada indikator awal uji teratologi dan toksisitas embriologi (He *et al.*, 2014). Selain itu, sekitar 70% DNA Ikan zebra sama dengan manusia, sehingga mampu memperlihatkan efek paparan zat toksik yang dapat muncul pada manusia (Dewanti dkk., 2015), tahapan perkembangan organ tidak membutuhkan waktu lebih lama dan struktur tubuh transparan sehingga memudahkan pengamatan (Besu *and* Sachidanandan, 2013).

Pengujian ini merupakan salah satu upaya untuk menjamin tingkat keamanan sediaan uji pada manusia. Selain itu, menjadi salah satu syarat agar formula ramuan herbal dari sediaan berbasis bawang putih ini dapat dikembangkan menjadi obat herbal terstandar.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain seperangkat alat perebusan (Zebra[®]), blender (Philips[®]), timbangan (labpro[®]), pipet, microplate 24 well (Biologix[®]), akuarium, aerator, alat-alat gelas (pyrex[®]), mikropipet (Dragonlab[®]), tip, termometer, mikroskop dan kamera.

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain bawang putih tunggal, jahe merah, madu, cuka apel, dan jeruk lemon yang diperoleh dari Pasar Bogor, Jawa Barat. Embrio ikan zebra, akuades, air sumur, kertas saring, pH Indikator, reagen Mayer, reagen Dragendorff, reagen Bouchardat, besi (III) klorida 3 % (FeCl₃), gelatin 10 %, metanol, ammonia, HCl, diklorometan, eter, folin-ciocalteu, asam klorida (HCl), serbuk Magnesium (Mg). Embrio ikan zebra yang digunakan berasal dari peternak ikan lokal di daerah Cibinong. Untuk memastikan bahwa subjek uji yang digunakan benar, sebelum penelitian dilakukan penyeleksian terhadap embrio ikan zebra sesuai dengan panduan pada OECD No 236 (OECD, 2013).

Determinasi Tanaman

Proses determinasi dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Pusat Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya Bogor. Hasil determinasi No B-5730/III/KS.01.03/5/2021 menyatakan bahwa tanaman yang digunakan adalah *Citrus limon* (L.) Osbeck, Rutaceae, jeruk lemon. *Zingiber officinale* Roscoe (sinonimnya *Zingiber officinale* var.

Rubrum Theilade), *Zingiberaceae*, jahe merah dan *Allium sativum* L., suku Amaryllidaceae, bawang putih tunggal.

Pembuatan SCBBP

Pembuatan sediaan ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Winderlina dan Sukaesih (2019). Formula ramuan sediaan cair berbasis bawang putih ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula SCBBP

Bahan	Jumlah
Bawang putih tunggal	250 g
Jahe merah	250 g
Lemon	50 ml
Cuka apel	125 ml
Madu	150 ml
Air	hingga 1 L

Jahe merah segar dan bawang putih tunggal diblender dengan 250 ml air hingga halus dan dimasak dengan api sedang selama \pm 30 menit sampai mendidih. Campuran tersebut kemudian disaring panas-panas dan ditambahkan cuka ape, air lemon dan ditambahkan madu setelah campuran mulai dingin sambil diaduk hingga merata. Sediaan disimpan dalam wadah dan dimasukkan ke dalam kulkas (4°C) sebelum digunakan.

SCBBP yang telah dibuat diuji organoleptic dan fitokimia seperti uji flavonoid, alkaloid, tanin saponin dan polifenol mengacu pada metode Hanani (2015).

Pengujian Toksisitas Akut SCBBP

Pengujian toksisitas akut SCBBP telah melalui tahap kaji etik dan telah disetujui oleh Komite Etik Penggunaan Hewan Percobaan FMIPA Universitas Pakuan dengan Surat Keputusan Komite Etik No.002/KEPHP-UNPAK/04-2021. Pengujian ini mengacu pada tatalaksana OECD 236. Adapun tahapan penelitian ini meliputi pembuatan larutan uji, seleksi embrio selanjutnya uji toksisitas.

Pembuatan Larutan Uji

Pada pembuatan larutan uji, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan konsentrasi batas ambang bawah dan batas ambang atas dalam menentukan konsentrasi definitif. Batas ambang bawah adalah konsentrasi paling besar yang tidak membunuh hewan uji selama waktu 48 jam sedangkan batang ambang atas merupakan konsentrasi terkecil yang dapat membunuh seluruh hewan uji dalam waktu 24 jam.

Sediaan dilarutkan dalam air sumur yang telah disaring dan dibuat larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm. Pembuatan larutan induk 2000 ppm dibuat dengan menimbang 200 mg sediaan cair berbasis bawang putih dilarutkan dalam 100 ml air sumur yang sebelumnya telah disaring. Konsentrasi yang digunakan berdasarkan hasil uji pendahuluan yaitu 1100 ppm, 1300 ppm, 1400 ppm, 1500 ppm, dan 1600 ppm. Selain sediaan uji terdapat kelompok kontrol internal dan kontrol negatif sebagai kelompok pembanding, dimana kontrol internal menggunakan air sumur yang telah disaring dan kontrol negatif menggunakan akuades.

Seleksi Embrio

Embrio ikan zebra dimasukkan ke dalam beker yang sudah diisi dengan media sel telur (*egg water*) yang telah diaerasi selama 24 jam dan disaring dengan kertas saring. Embrio dipindahkan ke dalam cawan petri untuk diseleksi dan diperiksa fertilitasnya menggunakan mikroskop. Embrio yang digunakan

berusia 8 jam. Embrio diseleksi terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam masing masing *well plate*. Proses seleksi ditujukan untuk mendapatkan embrio normal yang ditandai dengan adanya kuning telur dan berwarna bening (OECD, 2013).

Uji Toksisitas Akut Menggunakan Embrio Ikan Zebra

Masing – masing embrio yang telah lulus tahap seleksi kemudian dipindahkan ke dalam sumur. Setiap konsentrasi yang diujikan menggunakan 10 buah embrio (satu embrio per sumur) yang dimasukkan dalam tiap pelat. Uji toksisitas dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Embrio dipindahkan dengan menggunakan mikropipet 100 μ L. Pada masing – masing konsentrasi ditambahkan kontrol internal (*egg-water*) dan kontrol negatif/pelarat menggunakan akuades. Pelat yang berisi embrio ikan zebra ditempatkan pada suhu kamar ($\pm 26^{\circ}\text{C}$), diamati setiap 24 jam sampai dengan 96 jam.

Pengamatan meliputi daya tetas, hidup atau matinya embrio ikan zebra didasarkan pada terjadinya koagulasi embrio, pembentukan somit, dan pelepasan ekor selama kurang dari 24 jam setelah pemaparan serta kemampuan *hatching* keluar dari korion kurang dari 48 jam setelah pemaparan. Pengamatan kelainan atau abnormalitas meliputi terhadap normal atau tidak nya sumbu tubuh dan ekor, kepala, pigmentasi, abnormalitas mata, jantung, darah, otak, somit, notokorda, dan kantung kuning telur. Daya tetas dihitung menggunakan rumus dari Huang *et al.*, (2018).

$$\text{Daya tetas telur} = \frac{\text{Jumlah embrio yang menetas pada jam ke-96}}{\text{Jumlah embrio awal pengamatan}} \times 100\%$$

Analisis Data

Penentuan nilai LC_{50} (*Lethal concentration 50%*) ditentukan dengan kurva hubungan antara *log* konsentrasi (sumbu x) dan nilai probit (sumbu y).

Selanjutnya ditentukan analisis probit dapat dihitung dengan menentukan nilai regresi linear. Selain itu dihitung juga nilai EC_{50} (*Effective Concentration 50%*) dengan prinsip yang sama dengan LC_{50} .

Indeks Teratogen (IT) diperoleh dari rasio LC_{50}/EC_{50} . Data dianalisis secara statistik menggunakan SPSS metode *analysis of Varian* (ANOVA) dengan uji lanjut LSD. Semua data diinterpretasikan sebagai $Mean \pm SD$ dengan pengulangan 3 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pembuatan SCBBP

SCBBP memiliki rasa dan aroma yang khas dominan dari bawang putih tunggal dan jahe merah dengan warna coklat kemerahan.

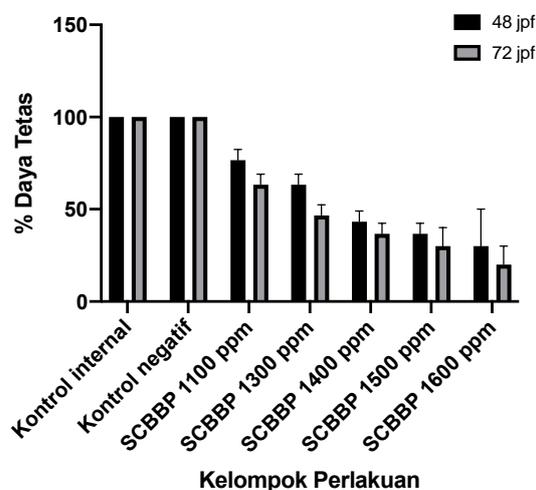
Analisis fitokimia dilakukan dengan menggunakan analisis uji kualitatif yakni mengamati reaksi warna dengan beberapa pereaksi. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa SCBBP mengandung flavonoid, alkaloid, tanin dan polifenol.

Daya Tetas Embrio Ikan Zebra

Penetasan merupakan periode penting dalam embriogenesis ikan zebra. Menurut Huang *et al* (2018) dalam kondisi normal, embrio ikan zebra akan mulai menetas pada 48 jam paska fertilisasi (jpf) dan berakhir pada 72 jpf. Pada penetasan embrio ikan zebra ada penundaan pada 48 jpf dan 72 jpf dengan peningkatan konsentrasi paparan SCBBP dibandingkan dengan kontrol internal maupun kontrol negatif Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1 diketahui bahwa terdapat penurunan tingkat penetasan embrio ikan zebra pada setiap peningkatan konsentrasi paparan SCBBP pada 48 jpf dan 72 jpf. Penurunan daya tetas embrio yang diberi perlakuan SCBBP kemungkinan disebabkan karena sediaan ini dapat menembus korion embrio ikan zebra yang bersifat menghambat pertumbuhan dan perkembangan embrio yang menyebabkan gangguan struktural dan fungsional (Sun

dan Liu, 2017) serta dapat menyebabkan kematian pada embrio (OECD, 2013).



Gambar 1. Hasil Uji Daya Tetas Embrio Ikan Zebra

Keterangan: jpf (jam paska fertilisasi), SCBBP (Sediaan cair berbasis bawang putih)

Hasil Uji Toksisitas Akut SCBBP Terhadap Embrio Ikan Zebra

Studi toksisitas akut dilakukan untuk menguji efek samping jangka pendek suatu zat dalam dosis tunggal atau ganda (Gad, 2014). Temuan dari penelitian ini penting, karena dapat memberikan informasi tentang kemungkinan toksisitas akut pada manusia. Parameter yang diuji adalah LC_{50} (*Lethal Concentration 50*). Suatu bahan dapat dikatakan bersifat toksik atau tidak, dapat dilihat berdasarkan nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} diperoleh dari konsentrasi suatu senyawa uji yang menyebabkan 50% kematian pada hewan uji. Ikan zebra sangat baik digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian toksisitas karena mempunyai beberapa kelebihan diantaranya mudah didapat, diamati, dan memiliki kemiripan DNA dengan manusia yang cukup tinggi (Rubinstein, 2006; Martinez-Sales *et al.*, 2005).

Tabel 2. Nilai LC₅₀ SCBBP

Waktu Pemaparan	Nilai LC ₅₀			Rata-rata LC ₅₀ (ppm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
24 Jam	1.482	1.585	1.578	1.548 ±57,55
48 Jam	1.321	1.394	1.430	1.382±55,54
72 Jam	1.236	1.257	1.248	1.247±10,54
96 Jam	1.236	1.142	1.248	1.209±58,05

Menurut OECD (2013) macam-macam indikator kematian yang dijadikan parameter ketoksikan kualitatif pada embrio ikan zebra yaitu koagulasi embrio, tidak terjadinya pembentukan somit, tidak terjadinya pelepasan bagian *tail-bud* dari kuning telur dan tidak adanya detak jantung pada embrio. Dalam penelitian ini efek paparan SCBBP dapat menyebabkan kematian dan malformasi pada model hewan uji embrio ikan zebra. Nilai LC₅₀ uji toksisitas akut SCBBP terhadap embrio ikan zebra dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil analisis data pada uji toksistas akut SCBBP pada 24 jpf sampai 96 jpf memiliki rentang >1000 ppm. Jika mengacu pada Skala Toksisitas Akut Berdasarkan *Fish and Wildlife Service* (Waynon and Finley, 1980) nilai LC₅₀ >1000 artinya memiliki kategori relatif tidak berbahaya. Penelitian serupa dilakukan oleh Abu *et al* (2020), dimana campuran herbal lemon, cuka apel, bawang putih, jahe dan madu dengan rasio dan jenis bahan yang berbeda memiliki

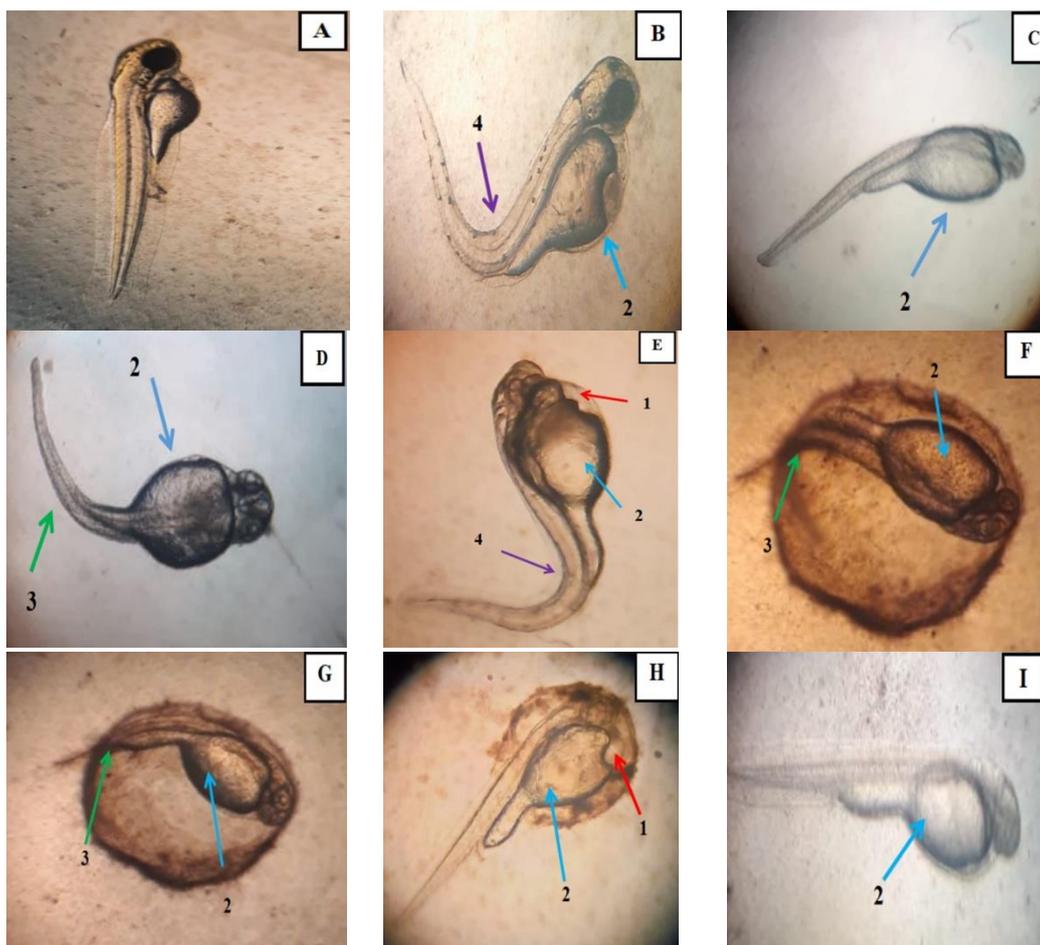
LC₅₀ yang lebih kecil yaitu 487,50 ppm. Meskipun demikian, kategori ketoksikan dari ramuan ini praktis tidak toksik. Adanya perbedaan rasio bahan, jenis dan sumber tanaman, cara ekstraksi ramuan tersebut dengan penelitian ini dapat mempengaruhi tingkat ketoksikan.

Hasil Uji Toksisitas Akut SCBBP Terhadap Abnormalitas Embrio

Beberapa indikator yang dijadikan parameter abnormalitas pada embrio ikan zebra meliputi normal atau tidaknya sumbu tubuh, ekor, somit, abnormalitas mata, notokorda, kantong kuning telur, dan edema perikardium. Abnormalitas ini dinilai dari pendekatan nilai EC₅₀ (*Effective Concentration 50*) yaitu konsentrasi suatu zat yang diharapkan menghasilkan efek tertentu pada 50% organisme uji, dimana pada penelitian ini EC₅₀ toksisitas akut yang dimaksud adalah konsentrasi yang menunjukkan gejala abnormalitas pada 50% populasi suatu senyawa uji. Hasil nilai EC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai EC₅₀ Sediaan Cair Berbasis Bawang Putih

Waktu Pemaparan	Nilai EC ₅₀			Rata-rata EC ₅₀ (ppm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
24 Jam	501.851	251.379	500.892	418.041±144,33
48 Jam	250.912	167.572	500.851	306.445±173,44
72 Jam	500.851	250.885	500.851	417.529±144,32
96 Jam	500.851	125.906	500.108	375.622±216,26



Gambar 2. Jenis abnormalitas pada embrio ikan zebra setelah pemaparan sediaan cair berbasis bawang putih selama 96 jam

Keterangan : (A) Embrio dengan perkembangan normal, (B-I) embrio yang mengalami abnormalitas setelah diberikan SCBBP (1) edema perikardium, (2) edema kantong kuning telur (yolk sac), (3) Kelainan pada ekor (4) kelainan notokorda.

Berdasarkan Tabel 3, diketahui bahwa nilai rata-rata EC_{50} SCBBP dalam waktu pemaparan yang berbeda memiliki rata-rata EC_{50} yang nilainya berdekatan dari rentang 306.445 ppm-418.041 ppm. Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($P>0,05$) antara nilai EC_{50} setiap waktu pemaparan, Hal ini berarti, semakin lama waktu pemaparan tidak mempengaruhi nilai EC_{50} .

Hasil pengamatan abnormalitas pada embrio ikan zebra menunjukkan adanya edema pada perikardium dan pada kantong kuning telur, kelainan pada ekor dan juga notokorda seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.

Edema perikardium dapat disebabkan oleh meningkatnya tekanan hidrostatik di jantung dan dapat disebabkan terjadinya kegagalan fungsi jantung, penurunan tekanan onkotik plasma dalam darah dan pembuluh darah pada sindrom nefrotik atau gagal hati (Hanke *et al.*, 2013). Pada embrio ikan zebra, kantong kuning telur (*yolk*) berfungsi sebagai gudang nutrisi untuk embrio (Sant *et al.*, 2018). Jika terdapat gangguan pada *yolk*, maka penyerapan nutrisi oleh embrio akan berkurang (Syahbirin *et al.*, 2017), hal ini mungkin terjadi karena terpengaruh oleh overhidrasi osmoregulasi dan akumulasi

toksin didalam kantung kuning telur (Park *et al.*, 2019).

Selain itu, terjadi kelainan pada tulang ekor, notokorda, dan sumbu tubuh. Kelainan tersebut mampu menghambat proses penetasan embrio (Mandrell *et al.*, 2012) dan juga dapat menyebabkan pemendekan dan pembengkokan pada ekor. Malformasi ekor dan cacat sumbu tulang belakang juga dipengaruhi oleh predasi dan penurunan drastis dalam pasokan makanan (Yumnamcha *et al.*, 2015).

Hasil Uji Teratogenisitas Sediaan pada Embrio Ikan Zebra

Toksisitas suatu senyawa diukur menggunakan dua indikator yaitu konsentrasi efektif median (EC₅₀) dan konsentrasi mematikan median (LC₅₀). Patricia McGrath (2012) menyatakan bahwa penentuan teratogenisitas dan perhitungan indeks teratogen dievaluasi dengan membandingkan konsentrasi senyawa yang menyebabkan kematian dan konsentrasi yang menyebabkan cacat perkembangan. Jika mengacu pada definisi yang digunakan untuk melakukan FETAX (*Frog Embryo Teratogenesis Assay Xenopus*). Indeks teratogen (TI) didefinisikan sebagai rasio LC₅₀/ EC₅₀ untuk setiap senyawa. Suatu senyawa dianggap teratogenik jika TI > 1 artinya menunjukkan bahwa konsentrasi dimana 50% ikan zebra menunjukkan kelainan perkembangan lebih rendah daripada konsentrasi dimana 50% kematian diamati. TI < 1 dianggap nonteratogenik. Jika TI = 1, maka penilaian toksisitas harus dilakukan pada konsentrasi LC₅₀

yang tepat untuk mendeteksi jika ikan zebra menunjukkan malformasi pada konsentrasi tersebut, karena mendapatkan nilai TI = 1 tidak mungkin. Hasil indeks teratogenik sediaan cair berbasis bawang putih dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan bahwa SCBBP memiliki nilai indeks teratogenisitas (TI) <1 mulai dari 24 jpf hingga 96 jpf sehingga masuk ke dalam kategori non teratogen. Berdasarkan hasil analisis statistik diketahui bahwa semakin lama paparan SCBBP, tidak mempengaruhi nilai indeks teratogenisitas (TI).

Mekanisme kematian dan terjadinya abnormalitas pada embrio ikan zebra berhubungan dengan adanya senyawa yang terkandung dalam SCBBP diantaranya alkaloid, flavonoid, polifenol dan tanin. Efek sinergis dari metabolit ini dapat memiliki potensi dalam mengurangi risiko dan mengobati metabolik penyakit (Shin *et al.*, 2014; Chien *et al.*, 2016). Meskipun demikian, senyawa tersebut dalam jumlah tinggi juga dapat meningkatkan risiko efek samping dan toksisitas (misalnya hepatotoksisitas dan nefrotoksisitas), yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian (Shin *et al.*, 2014).

Flavonoid dapat mempengaruhi perkembangan ikan zebra (Bugel *et al.*, 2016). Dalam konsentrasi yang tinggi diduga berperan dalam menghambat proses pencernaan makanan dengan menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan absorpsi nutrisi sehingga embrio menjadi kelaparan dan mati (Yunita dkk., 2009).

Tabel 4. Nilai Indeks Teratogenik Sediaan Cair Berbasis Bawang Putih (ppm)

Jam ke	Rata-rata LC ₅₀	Rata-rata EC ₅₀	Indeks Teratogenisitas (TI)
24 jpf	1.548	418.041	0,004
48 jpf	1.382	306.445	0,004
72 jpf	1.247	417.529	0,003
96 jpf	1.209	375.622	0,003

Alkaloid dapat menyebabkan kerusakan DNA (Yumnamcha *et al.*, 2015) dan juga menyebabkan gangguan saraf pada saluran pencernaan, alkaloid menyebabkan larva kehilangan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya, akibatnya larva mati kelaparan (Rita *dkk.*, 2008).

Tanin dapat menghambat absorpsi nutrisi di dalam usus sehingga dapat menyebabkan berkurangnya keter-sediaan nutrisi yang dibutuhkan oleh embrio dalam fase perkembangan (malnutrisi). Efek ini diperkuat dengan meningkatnya ekskresi protein dan asam amino. Malnutrisi terutama kalsium yang dibutuhkan oleh embrio selama proses pembentukan tulang dapat menyebabkan keterlambatan osifikasi (Cannas, 2008).

SIMPULAN

Sediaan cair berbasis bawang putih termasuk kedalam kategori toksisitas relatif tidak berbahaya untuk dikonsumsi karena memiliki nilai $LC_{50} > 1000$ ppm, EC_{50} toksisitas pada rentang 306445 ppm-418041 ppm dan indeks teratogenisitas (TI) < 1 , yang artinya non teratogen.

DAFTAR PUSTAKA

Abu Bakar, Azliana & Azlan, Azrina & Abas, Faridah & Hamzah, H. (2020). Nutritional composition, phytochemicals and acute toxicity of herbal mixture (lemon, apple cider, garlic, ginger and honey) in zebrafish embryo and Wistar rat. *Food Research*. 4: 196-204. 10.26656/fr.2017.4(S1).S11.

Besu, S and Sachidanandan, C. (2013). Zebrafish : A Multifaceted Tool for Chemical Biologists. *Chemical Review*, A-AC : 1-29.

Bugel, S.M.; Bonventre, J.A.; Tanguay, R.L. (2016). Comparative developmental toxicity of flavonoids using an integrative zebrafish system. *Toxicol. Sci.* 154, 55–68. 10.1093/toxsci/kfw139

Cannas, Antonello. (2008). Tannin: fascinating but sometimes dangerous molecules. Cornell University, NY, USA. URL <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin>.

Chien, M.Y., Ku, Y.H., Chang, J.M., Yang, C.M. and Chen, C.H. (2016). Effects of herbal mixture extracts on obesity in rats fed a high-fat diet. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3): 594-601. 10.1016/j.jfda.2016.01.012

Dewanti, R.T.A., Andriana, D., Yahya, A. (2015). Nilai LC_{50} Dekokta Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*, Benth) pada Embrio dan Ikan Zebra Dewasa. *J. Kedokt. Komunitas* 3(1): 22-26.

Hanani, Endang. (2015). *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Hanke, N., Staggs, L., Schroder, P., Litteral, J., Fleigh, S., Kaufeld, J., Pauli, C., Haller, H., Schiffer, M. (2013). “Zebra Fishing” for Novel Genes Relevant To Glomerular Filtration Barrier. *Biomed Res. Int.* Article ID 658270, 12 pages. 10.1155/2013/658270.

He, J.H., Gao, J.M., Huang, C.J. and Li, C.Q. (2014). Zebrafish models for assessing developmental and reproductive toxicity. *Neurotoxicology and Teratology*, 42, 35-42. 10.1016/j.ntt.2014.01.006

Huang, D., Li, H., He, Q., Yuan, W., Chen, Z. & Yang, H. (2018). Developmental toxicity of diethylnitrosamine in zebrafish Embryos/juveniles related to excessive oxidative stress. *Water, Air, and Soil Pollution*, 229(3): 81.

Ifora, Surya Dharma, Diken Maywidia Darma. (2016). Pengaruh Pemberian Kombinasi Jahe Merah, Bawang Putih, Apel, Lemon Dan Madu

- Terhadap Kadar Kolesterol Total Dan Histopatologis Pembuluh Darah Aorta Jantung Tikus Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Higea*, 8:163-174.
- Li H, Zhe-Ling F, Yi-Tao W, Li-Gen L. (2017). Anticancer carbazole alkaloids and coumarins from Clausena plants: a review. *Chinese J Nat Med*. 15: 881-8. 10.1016/S1875-5364(18)30003-7
- Liang, J., Li, J., Fu, Y., Ren, F., Xu, J., Zhou, M., Li, P., Feng, H., Wang, Y. (2018). GdX/UBL4A null mice exhibit mild kyphosis and scoliosis accompanied by dysregulation of osteoblastogenesis and chondrogenesis. *Cell Biochem. Funct.* 36: 129-136. 10.1002/cbf.3324
- Martinez-Sales M, Garcia-Ximenez F, Espinos FJ. (2015). Zebrafish as a possible bioindicator of organic pollutants with effects on reproduction in drinking waters. *Journal of Environmental Sciences*, 33: 254-260. 10.1016/j.jes.2014.11.012
- McGrath, Patricia. (2012). *Zebrafish Methods for Assessing Drug Safety and Toxicity*. Cambridge, MA, USA.
- Meisyah Yati, Sari, Wahyudi Apriyanto, dan Yopi Rikasari. (2016). Efek Imunomodulator Jus Herbal Kombinasi Bawang Putih, Jahe Merah, Jeruk Nipis, Cuka Apel, Dan Madu Terhadap Mencit Putih Jantan. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*. I (2): 59-66.
- Mulyani, Tri., Cinta, I.J., Rikkit S. (2020). Tinjauan Pustaka: Teknik Pengujian Teratogenik Pada Obat Herbal. *Jurnal Farmasi Udayana*. 9 (1): 31-36.
- OECD. (2013). *Fish Embryo Acute Toxicity (FET), Test Guideline No. 236, Guidelines on The Care and Use of Fish in Research, Teaching and Testing*. Canadian Council on Animal Care, Ottawa.
- Park, H., Lee, J. Y., Park, S., Song, G., Lim, W. (2019). Developmental toxicity and angiogenic defects of etoxazole exposed zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Aquat. Toxicol.* 217. 10.1016/j.aquatox.2019.105324
- Rita, W.S., Suirta, IW., Sabikin, A. (2008). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Yang Berpotensi Sebagai Antitumor Pada Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*. 2(1): 1-6.
- Rubinstein, A. L. (2006). Zebrafish assays for drug toxicity screening. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 2(2): 231-240. 10.1517/17425255.2.2.231
- Sant, K. E., Timme-Laragy, A. R. (2018). Zebrafish as a model for toxicological perturbation of yolk and nutrition in the early embryo. *Curr. Environ. Health*. 5: 125-133. 10.1007/s40572-018-0183-2
- Shin, H.S., Han, J.M., Kim, H.G., Choi, M.K., Son, C.G., Yoo, H.R., Jo, H.K. and Seol, I.C. (2014). Anti-atherosclerosis and hyperlipidemia effects of herbal mixture, *Artemisia iwayomogi* Kitamura and *Curcuma longa* Linne, in apolipoprotein E-deficient mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 153(1): 142-150. 10.1016/j.jep.2014.01-.039
- Sun, G., Liu, K. (2017). Developmental toxicity and cardiac effect of butyl benzyl phthalate in zebrafish embryos. *Aquat. Toxicol.* 192: 165-170. 10.1016/j.aquatox.-2017.09.020
- Syahbirin G., Mumuh N., Mohamad K. (2017). Curcuminoid and toxicity levels of ethanol extract of Javanese ginger (*Curcuma xanthorrhiza*) on brine shrimp (*Artemia salina*) larvae and zebrafish (*Danio rerio*)

- embryos. *Asian J. Pharm. Clin.* 10(4) :169-173.doi: 10.22159/ajpcr-2017.v10i4.1642
- Waynon, W. J., Finley, M. F. (1980). *Handbook of Acute Toxicity of Chemicals to Fish and Aquatic Invertebrates*. United States Departement of the Interior Fish and Wildlife Service Resources Publication, p. 137
- Wiendarlina, I.Y., Sukaesih, R. (2019). Perbandingan Aktivitas Antioksidan Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*) Dan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*) Dalam Sediaan Cair Berbasis Bawang Putih Dan Korelasinya Dengan Kadar Fenol Dan Vitamin C. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 6 (1):315-324.
- Yumnamcha, T., Roy, D., Devi, M. D., Nongthoma, U. (2015). Evaluation of developmental toxicity and apoptotic induction of aqueous extract of *Millettia pachycarpa* using zebrafish as a model organism. *Toxicol Environ. Chem.* 97. 1363-1381. 10.1080/02772248-2015.1093750
- Yunita, E.A., Nanik, H.S., dan Jafron W.H. (2009). Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) Terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. *Bioma*. 11(1):11-17.