

Isolation Senyawa Polifenol Black Garlic dan uji toksisitasnya dengan Artemia salina

by Santi Nur Nur

Submission date: 28-Mar-2023 10:12AM (UTC+0700)

Submission ID: 2048692484

File name: nol_Black_garlic_Dan_Uji_Toksisitasnya_Terhadap_Larva_Udang.docx (184.51K)

Word count: 2256

Character count: 13252

1 Isolasi Senyawa Polifenol Black garlic Dan Uji Toksisitasnya Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach)

ABSTRACT

Cancer is one of diseases caused by cell division that is uncontrollable. Cervical cancer is a cancer that suffered by many women. Alternative medicine of cancer disease is use black garlic. Black garlic is the result of processing the garlic with high temperature and humidity without addition of other substances. In that process occur Maillard reaction that cause changes in 10 color, smell, and taste of the original on the garlic. Such reaction also lead to an increase son 27 bioactive compounds such as *S*-allyl cysteine (SAC), 22 amino acids, flavonoids, and polyphenols. To determine the toxic properties of black garlic extract, it is necessary to do isolation of polyphenolic compounds and toxicity test against *Artemia salina* Leach. When calculated by SPSS application, the obtained LC_{50} values of black garlic extract on the aging prosess time variations of 30 days and 40 days showed concentration of 682.433 and 572.403 ppm.

Keywords : Maillard reaction, aging process, polifenol, black garlic, BSLT.

PENDAHULUAN

15 Kanker merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh pembelahan sel yang tidak terkontrol dan tidak terkendali. Hal itu mampu menyebabkan kerusakan pada suatu jaringan tersebut dan jaringan di sekitarnya. Salah satu penyakit kanker yang masih banyak memakan banyak korban terutama pada kaum wanita adalah kanker serviks. Menurut Tim 6 *Cancer Help* (2010), setiap hari di Indonesia diperkirakan terdapat 40-45 kasus baru dan sekitar 20-25 wanita meninggal dikarenakan kanker serviks. Beberapa upaya tim medis untuk menumpas penyakit tersebut saat ini seperti kemoterapi, penyinaran, dan operasi pembedahan masih banyak membawa dampak negatif bagi tubuh manusia. Oleh karena itu perlu adanya pengobatan alternatif untuk menghambat pertumbuhan sel kanker dengan meminimalkan efek samping yang terjadi. Salah satu bahan yang dapat digunakan adalah *black garlic*.

Black garlic merupakan 14 hasil pengolahan terhadap bawang putih dengan suhu dan kelembapan yang tinggi tanpa penambahan zat lain dan prosesnya dinamakan proses aging. Suhu yang ideal untuk membuat *black garlic* adalah 70° C (Choi *et al.*, 2014; Kimura *et al.*, 2017). Pada proses aging tersebut terjadi suatu reaksi yang bernama reaksi Maillard. Reaksi Maillard dapat menyebabkan perubahan warna, bau, serta rasa asli pada bawang putih. Perubahan karakteristik yang terjadi pada proses tersebut adalah perubahan warna bawang putih menjadi hitam, rasa bawang menjadi manis serta bau menyengat pada bawang sudah tidak lagi tercium. Selain perubahan warna, reaksi tersebut juga menyebabkan peningkatan beberapa senyawa bioaktif seperti *S*-allyl cysteine (SAC) 5 amino asam, flavonoid, polifenol, dll. Apabila dibandingkan dengan bawang putih segar, *black garlic* menunjukkan antioksidan kuat dan kemampuan menangkap aktivitas radikal

bebas (Kim *et al.*, 2012). Salah satu kandungan dalam *black garlic* yang akan diujikan adalah senyawa metabolit sekunder polifenol.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Il Sook Choi *et al.*, (2008), menyatakan bahwa *black garlic* memiliki aktivitas antiradikal yang kuat dalam uji penangkapan aktivitas radikal bebas terhadap hewan dan manusia. Kekuatan antiradikal pada *black garlic* lebih kuat dibandingkan pada bawang putih segar. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan adalah polifenol. Proses *aging* menyebabkan peningkatan senyawa polifenol yang terkandung didalam *black garlic*. Proses *aging* pada bawang putih memicu peningkatan fraksi bebas asam fenolik, sedangkan menurunkan fraksi ester, glikosida yang menyebabkan peningkatan bentuk fenol bebas. Proses *aging* ini menyebabkan perubahan senyawa bioaktif pada bawang putih seperti polifenol yang dapat digunakan sebagai antikanker (Xu *et al.*, 2007).

Berdasarkan penjelasan tersebut maka perlu dilakukan isolasi senyawa polifenol serta uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach.

METODE PENELITIAN

Proses *aging* *Black garlic* (Danan, *et al.*, 2007).

Bawang putih yang digunakan adalah jenis lanang. Bawang tersebut dilakukan proses *aging* dengan temperatur 70°C dan kelembapan 75% dengan variasi waktu 30 dan 40 hari. Selama proses *aging* tidak dilakukan penambahan bahan apapun. Bawang putih akan berubah warna dari putih menjadi abu-abu kemudian hitam setelah satu bulan kemudian. *Black garlic* yang dihasilkan lunak tidak berbau khas bawang yang menyengat dan rasanya manis dengan sedikit asam.

Ekstrak *Black garlic*

Black garlic sebanyak 100 gram dihaluskan dengan menggunakan mortar kemudian di maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 2x24 untuk untuk mengisolasi senyawa polifenol, kemudian sampel diekstraksi, kemudian disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan sampel yang telah diisolasi dari pelarutnya.

Penentuan kadar polifenol total dengan Spektrofotometer UV-Vis

Tahap pertama adalah membuat larutan standar asam galat yang kemudian diujikan dengan spektrofotometer UV-Vis untuk diperoleh persamaan regresi. Persamaan regresi tersebut akan digunakan untuk menentukan kadar senyawa polifenol total dalam *black garlic*. Pada penetapan kadar polifenol total dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu 10% untuk membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Pereaksi Folin-Ciocalteu akan menginduksi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi mereduksi asam heteropoli (*Fosfomolibdat-fosfotungstat*) yang terdapat di dalam pereaksi Folin-Ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten. Senyawa fenolik hanya dapat bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu pada saat suasana basa agar terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat, maka dilakukan penambahan Na_2CO_3 7,5%. Gugus hidroksil pada senyawa fenolik akan bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molibdenum-tungsten berwarna biru yang dapat dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis (Hari, 2013).

Tahap kedua adalah melarutkan 10 mg ekstrak *black garlic* ke dalam 10 mL etanol untuk digunakan sebagai larutan induk

dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan induk tersebut kemudian dibuat variasi konsentrasi 500 ppm, 300 ppm, 250 ppm, dan 100 ppm untuk diujikan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh nilai absorbansinya.

Uji Toksisitas Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Tahap pertama adalah pembiakan larva udang *A. salina*. Air laut dimasukkan ke dalam suatu tempat kecil yang sudah dibagi menjadi dua kamar menggunakan sekat jaring. Telur udang *A. salina* dimasukkan secukupnya ke dalam salah satu ruang yang atasnya di tutup dengan papan agar ruangan tersebut gelap. Bagian wadah yang lain dibiarkan terbuka dan diberi lampu untuk menarik udang yang menetas melalui lubang sekat, sehingga larva dapat dipisahkan dari bagian telur dan udang yang tidak sehat.

Telur udang *A. salina* akan menetas menjadi udang kecil setelah dua hari (2 x 24 jam) dan siap untuk dilakukan uji. Sebanyak 50 mg ekstrak *black garlic* diambil dan dilarutkan dengan 25 mL air laut. Ekstrak ditambahkan dengan *tween* pada konsentrasi

250 ppm untuk membantu melarutkan dengan sempurna dalam air laut. Beberapa larutan utama ekstrak *black garlic* diambil menggunakan mikropipet dan diencerkan menjadi beberapa variasi konsentrasi. Setiap tabung diisi dengan sepuluh larva udang dan air laut, diberikan dua tetes ragi (3 mg / mL air laut) sebagai nutrisi mereka. Tabung diberikan sampel uji dalam jumlah tertentu dan diencerkan dengan air laut hingga 5 mL, hingga diperoleh konsentrasi akhir masing-masing yaitu 1000; 750; 500; 250; 125; dan 62,5 ppm. Tabung kontrol adalah konten yang sama dengan tabung uji tetapi tanpa sampel. Tabung reaksi dan tabung kontrol diinkubasi secara terbuka dan diberi cahaya selama 24 jam. Jumlah larva hidup untuk masing-masing konsentrasi dihitung dan dicatat untuk menentukan persentase kematian udang serta LC₅₀. Jika ada larva mati dalam larutan kontrol, jumlah larva yang mati dalam larutan kontrol dikurangi dengan jumlah larva yang terbunuh dalam larutan uji. Berdasarkan, persentase kematian

dihitung sebagai berikut:

$$\begin{aligned} & \% \text{ Kematian larva udang} \\ &= \frac{\Sigma \text{ larva hidup kontrol} - \Sigma \text{ larva hidup perlakuan}}{\Sigma \text{ larva hidup kontrol}} \times 100\% \end{aligned}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Proses Aging

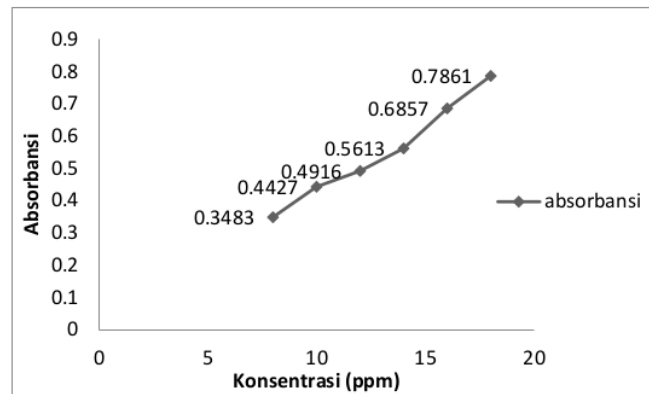
Gambar	Lama proses fermentasi	Rasa	Warna	Tekstur	Bau
	0 hari	Khas bawang putih	Putih kekuning-kuningan	Keras, lengket dan lengket	Khas bawang putih menyengat
	10 hari	Manis dominan asam	Coklat pekat	Basah, kenyal, dan lengket	Bau bawang tidak menyengat dan sedikit bau asam
	20 hari	Manis sedikit asam	Hitam	Sedikit kering, sedikit kenyal, lengket bila dihaluskan	Bau bawang tidak menyengat dan sedikit bau asam
	30 hari	Manis, asam sedikit pahit	Hitam	Kering dan keras	Bau bawang sudah tidak tercium
	40 hari	Manis, asam sedikit pahit	Hitam	Keras, kering, dan renyah	Bau bawang sudah tidak tercium

Tabel 1. Hasil perubahan bawang putih setelah proses *aging*

Berdasarkan data di atas perubahan bawang putih selama proses *aging*. Perubahan warna bawang putih menjadi hitam dikarenakan adanya reaksi Maillard dimana kandungan gula dan asam amino membentuk senyawa melanoidin (substansi yang mengubah bawang putih menjadi hitam) (Kim *et al.*, 2012; Villalon *et al.*, 2016). Selain itu, proses *aging* tersebut dapat mengurangi rasa dan bau yang menyengat menjadi rasa manis dan sedikit asam, hal ini dikarenakan terjadinya penurunan pH dari 6 menjadi 3,8 (Lu *et al.*, 2016; Villalon *et al.*, 2016).

Analisis Kadar Polifenol

Pada penentuan kadar polifenol total digunakan asam galat sebagai larutan standar acuan, dan hasilnya dinyatakan sebagai persen ekivalen asam galat (EAG) yang kemudian dibuat kurva baku asam galat dengan mel-²⁴itkan asam galat dengan variasi konsentrasi 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm, dan 18 ppm. Dari kurva baku tersebut diperoleh persamaan regresi linier yang kemudian digunakan untuk menentukan kadar polifenol dalam *black garlic*. Pada penelitian persamaan regresi linier yang diperoleh adalah $y = 0,0427x - 0,0022$ dan nilai $R^2 = 0,982$.



Grafik 1. Persamaan regresi asam galat

Dari data tersebut dapat diperoleh kadar polifenol total dalam *black garlic* sebagai berikut :

Tabel 2. Kadar senyawa Polifenol total dalam *black garlic*

Lama Proses Aging (hari)	Kadar Polifenol Total (ppm)
0	3,5
10	18,06
20	22,95
30	39,79
40	57,38

Pada penelitian sebelumnya oleh Ji-Sang (2013) melakukan penelitian mengenai perbandingan kandungan polifenol dengan flavonoid pada *black garlic* berdasarkan variasi suhu pada proses *aging* dan hasil uji menyatakan bahwa kandungan polifenol yang memiliki peningkatan yang cukup signifikan adalah pada suhu 75°C dengan kelembapan 70%. Kemudian penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama proses *aging* untuk memperoleh kandungan polifenol yang lebih maksimal. Berdasarkan data hasil uji menunjukkan bahwa semakin lama proses *aging* pada *black garlic* maka kadar senyawa polifenol akan semakin meningkat. *Black*

garlic dengan dengan lama proses *aging* 40 hari memiliki konsentrasi tertinggi yaitu sebesar 57,38 mg/10mL. Hal itu sesuai dengan pernyataan Sato *et al.*, (2006), yaitu proses fermentasi meningkatkan kandungan polifenol lebih baik dibandingkan bawang segar.

¹¹ Uji Toksisitas Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas ini hanya menggunakan dua sampel *black garlic* dengan kandungan polifenol tertinggi. Berdasarkan uji BSLT yang dilakukan terhadap sample ekstrak *black garlic*, diperoleh data sebagai berikut :

Tabel 3. Data Primer BSLT

No	Lama Proses Aging (hari)	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Larva hidup rata-rata	% kematian	Log Konsentrasi	Nilai Probit
1	40	1000	1	90	3,106	2,950
2	40	750	3,3	67	2,827	2.708
3	40	500	7,33	27	2,529	2,266
4	40	250	9	10	2,409	2,045
5	40	125	9,66	4	2,282	1,802
6	40	62,5	10	0	0	0
7	30	1000	1,67	83,3	3,053	2,918
8	30	750	5	50	2,834	2,711
9	30	500	8	20	2,615	2,331
10	30	250	9	10	2,500	2,086
11	30	125	10	0	0	0
12	30	62,5	10	0	0	0

Tabel tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar polifenol serta semakin tinggi konsentrasi pada ekstrak *black garlic* yang diuji, maka persentase kematian larva *A. salina* Leach semakin tinggi, sedangkan dalam kontrol tidak terdapat ekstrak *black garlic* tidak ditemukan larva yang mati. Hal ini dikarenakan dalam tabung kontrol tidak terdapat ekstrak sampel yang bersifat toksik. Menurut Carballo (2002), kematian larva *A. salina* Leach disebabkan oleh komponen-komponen bioaktif dari ekstrak sampel, bukan disebabkan kelaparan sehingga

dilakukan pembandingan antara perlakuan dan kontrol.

Dengan menggunakan perhitungan aplikasi SPSS, diperoleh nilai LC_{50} ekstrak *black garlic* pada variasi lama waktu fermentasi 30 hari dan 40 hari berturut-turut menunjukkan konsentrasi 682,433 dan 572,403 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *black garlic* bersifat toksik terhadap larva *A. salina* Leach.

SIMPULAN

1. Selama proses *aging* terjadi reaksi Maillard yang menyebabkan

perubahan warna bawang putih. Selain itu, reaksi Maillard juga menyebabkan berkurangnya bau khas bawang putih yang menyengat serta rasanya menjadi manis sedikit asam.

2. Lamanya proses *aging* mempengaruhi kadar senyawa polifenol total. Semakin lama proses fermentasi maka akan semakin tinggi pula kadar senyawa polifenol total yang terkandung di dalam *black garlic*.
3. Uji Toksisitas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari suatu ekstrak maka akan semakin tinggi pula persentase kematian larva *A. salina* Leach. Hal ini dikarenakan kandungan komponen bioaktif di dalamnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terimakasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah memberi kami fasilitas berupa hibah PKM-PE sehingga kami dapat melaksanakan penelitian ini dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Carballo, J.L., Zaira L. H., Pilar P., and Maria D.G. A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect in Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Product. *BMC Biotechnol* 10. 2002. 1186/1472-6750; 2:17.
2. Choi, S., H.S. Cha and Y.S. Lee. Physicochemical and Antioxidant Properties of Black garlic. *Molecules*. 2014. 19: 16811-16823
3. Choi, Duk Ju., *et al.* Physicochemical Characteristics Of Black garlic (*Allium sativum*). *J Korean Soc.Food Nutr*. 2008. 37(4) : 465-471
4. Danan W, Yonghui F, Jun L, Jianzhong Y, Meiru W, Jin-ichi S, Changlong L. Black garlic (*Allium sativum*). *J Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*. 2010. 4(1) : 37-40.
5. Hari S, Riza Alfian. Determination Of Total Phenolic Content Of Methanolic Extracts Red Rosell (*Hibiscus sabdariffa* Linn) Calyxes In Variation Of Growing Area By Spectofotometry. *J Ilmiah Kefarmasian*. 2012. 2(1) : 73-80.
6. Hoshino T, Kashimoto N, Kasuga S. Effects of garlic preparations on the gastrointestinal mucosa. *J Nutr*. 2001. 131(3): S1109-13.
7. Ji-Sang, Kim; Kang, Ok-Ju; Gweon, Oh-Cheon. Comparison Of Phenolic Acids and Flavonoid in Black Garlic At Different thermal processing steps. *J.Of Functional Food*. 2013.5(1) : 80-86.
8. Kimura, S., Y.C. Tung., M.H. Pan., N.W Su., Y.J. Lai and K.C. Cheng. Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *Journal of food and drug analysis*. 2017. 25(1) : 62-70.
9. Kim JH, Nam SH, Rico CW, Kang MY. A Comparative Study on the Antioxidative and Anti-allergic Activities of Fresh and Aged Black Garlic Extracts. *Int J Food Sci Tech*. 2012. 47(6):1176-82.
10. Lybarger J.A., Gallagher J.S., Pulver D.W., Litwin A, Brooks S, Bernstein I.L. Occupational Asthma Induced by Inhalation and Ingestion of Garlic. *J Allergy Clin Immun*. 1982. 69(5):448-54.
11. Xu, G., Ye X., Chen J., Liu D. Effect of Heat Treatment on The Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Citrus Peel Extract. *J. Agric. Food Chem*. 2007. 55(2): 300-5
12. Villalón, A.L. G., S. Amor, L. Monge, N. Fernández, M. Prodanov, M. Muñoz, A.M. Inarejos-García, and M. Granado. In vitro studies of an aged black garlic extract enriched in S-allylcysteine and

- polyphenols with cardioprotective effects. *Journal of functional foods*. 2016. 27: 189–200
13. Lu, X., N. Li., X. Qiao., Z. Qiu, and P. Liu. Composition Analysis and Antioxidant Properties of Black Garlic Extract. *Journal of food and drug analysis*. 2016. 1-10

Isolation Senyawa Polifenol Black Garlic dan uji toksitasnya dengan Artemia salina

ORIGINALITY REPORT

17%

SIMILARITY INDEX

13%

INTERNET SOURCES

8%

PUBLICATIONS

3%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	ojs.iik.ac.id Internet Source	1%
2	karyailmiah.unisba.ac.id Internet Source	1%
3	ejurnal.esaunggul.ac.id Internet Source	1%
4	Khoirul Anwar, Faridha Maera Lokana, Aqnes Budiarti. "Antioxidant Activity of Dewandaru Leaf (Eugenia Uniflora L.) Ethanol Extract and Determination of Total Flavonoid and Phenolic Content", JURNAL ILMIAH SAINS, 2022 Publication	1%
5	proceeding.unnes.ac.id Internet Source	1%
6	Submitted to Universitas Brawijaya Student Paper	1%
7	eprints.uns.ac.id Internet Source	1%

8	journal.uinsgd.ac.id Internet Source	1 %
9	dokterharry.com Internet Source	1 %
10	maxwellsci.com Internet Source	1 %
11	Endar Marraskuranto, Nurrahmi Dewi Fajarningsih, Hedi Indra Januar, Thamrin Wikanta. "Aktivitas Antitumor (Hela dan T47d) dan Antioksidan Ekstrak Makroalga Hijau Ulva fasciata", Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 2008 Publication	1 %
12	abughifary.wordpress.com Internet Source	1 %
13	caridokumen.com Internet Source	1 %
14	jurnalfarmasidankesehatan.ac.id Internet Source	1 %
15	mirror.unpad.ac.id Internet Source	1 %
16	Nurlansi Nurlansi, Ardiansyah Ardiansyah, Rustam Musta. "Waktu Optimum Hidrolisis Pati Limbah Hasil Olahan Ubi Kayu (Manihot esculenta Crantz var. Lahumbu) Menjadi Gula	<1 %

Cair Menggunakan Enzim α -Amilase Dan Glukoamilase", Indo. J. Chem. Res., 2018

Publication

17

Praise Maningkas, Dingse Pandiangan, Febby Kandou. "Uji Antikanker dan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.) Anticancer and Antioxidant Test of Methanol Extract of Epazote leaves (*Dysphania ambrosioides* L.)", JURNAL BIOS LOGOS, 2019

Publication

<1 %

18

Sabarudin - Sabarudin, Dewi Kurniasih. "Komposisi metabolit sekunder dan uji toksisitas fraksi etil asetat daun leban (*Vitex pinnata* Linn)", Riset Informasi Kesehatan, 2021

Publication

<1 %

19

ejournal.unpatti.ac.id

Internet Source

<1 %

20

proceeding.unisba.ac.id

Internet Source

<1 %

21

uit.e-journal.id

Internet Source

<1 %

22

Muhammad Irmawan, Frederyk Mandey, Seniwati Dali. "Isolation, Identification, Characterization, And Toxicity Essay Of Non-polar Secondary Metabolite Fraction

<1 %

23

Supatra Karnjanapratum, Suriyan
Supapvanich, Pensiri Kaewthong, Sirima
Takeungwongtrakul. "Impact of steaming
pretreatment process on characteristics and
antioxidant activities of black garlic (*Allium
sativum* L.)", Journal of Food Science and
Technology, 2020

Publication

<1 %

24

file.scirp.org

Internet Source

<1 %

25

journal.unhas.ac.id

Internet Source

<1 %

26

lib.unnes.ac.id

Internet Source

<1 %

27

Ha, Ae Wha, Tian Ying, and Woo Kyoung Kim.
"The effects of black garlic (*Allium satvium*)
extracts on lipid metabolism in rats fed a high
fat diet", Nutrition Research and Practice,
2015.

Publication

<1 %

28

zombiedoc.com

Internet Source

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches

< 6 words

Exclude bibliography On