

## Uji toksisitas ekstrak etil asetat kernel biji mangga (*mangifera indica* L.) varietas gadung terhadap *artemia salina* dan isolasi komponen utama

Putri Andaniya, Siti Marfu'ah, dan Dedek Sukarianingsih

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Malang

e-mail: putriniya59@gmail.com; siti.marfuah.fmipa@um.ac.id;

dedek.sukarianingsih.fmipa@um.ac.id

**Abstrak:** Penelitian tentang toksisitas ekstrak etil asetat dan isolasi komponen utama dari kernel biji mangga varietas gadung telah dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kernel biji mangga varietas gadung mengandung senyawa golongan tanin, triterpenoid, flavonoid, saponin, dan karbohidrat, serta bersifat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  824 ppm. Hasil isolasi komponen ekstrak etil asetat dari kernel biji mangga varietas gadung dengan kromatografi lapis tipis preparatif dan eluen n-heksana-kloroform-etil asetat (2: 1: 1) diperoleh komponen P1 dan P2. Hasil identifikasi komponen P1 dan P2 berupa padatan tidak berwarna, positif terhadap uji flavonoid, dan mempunyai gugus O-H, gugus C-H alkana, gugus C=O ester, gugus C=C aromatik, gugus C-O eter, dan gugus C-H aromatik. Komponen P1 dan P2 diduga merupakan senyawa golongan flavonoid.

**Kata kunci:** toksisitas, ekstrak etil asetat, kernel biji mangga, flavonoid

**Abstract:** Research has been conducted about toxicity of ethyl acetate extract and isolation of main component from mango seed kernel varieties gadung. The result showed that of ethyl acetate extract of mango seed kernels varieties gadung containing to tannin, triterpenoid, flavonoid, saponin, and carbohydrate, and toxic toward *Artemia salina* with  $LC_{50}$  value of 824 ppm. The result isolation component of ethyl acetate extract from mango seed kernel varieties gadung with thin layer chromatography preparative and eluent of chloroform-n-hexane-ethyl acetate result the components P1 and P2. The result identification the components P1 and P2 ware form of colorless solid, positive toward the flavonoid test, and have group of O-H, group C-H alkanes, group C=O ester, group C=C aromatic, group C-O ether, and the group C-H aromatic. The components P1 and P2 was assumed belong to flavonoid compounds.

**Keywords:** toxicity, ethyl acetate extract, mango seed kernel, flavonoid

Mangga merupakan tanaman musiman yang tumbuh subur di iklim tropis. Produksi mangga di Indonesia menurut Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura pada tahun 2015 adalah 2.178.826 ton. Dalam industri pengolahan makanan, mangga diolah menjadi buah kaleng, sale, manisan, dan jus. Mangga yang sering dimanfaatkan adalah mangga gadung, karena memiliki rasa manis dan daging buah yang tebal. Bagian mangga yang banyak dimanfaatkan hanya daging buahnya saja sedangkan biji mangga kurang dimanfaatkan. Biji mangga mengandung kulit dan kernel biji. Kernel biji mangga (*Mangifera indica* L.) mengandung kadar air 5,90%, abu 2,43%, protein kasar 5,20%, lemak 9,84%, karbohidrat 76,14%, dan serat kasar 0,49% (Joyce *et al*, 2014). Kandungan

senyawa kernel biji mangga adalah alkaloid, getah, flavonoid, fenol, saponin, steroid, tanin, dan xanthoprotein (Rajan *et al* 2011).

Ekstraksi kernel biji mangga dengan metode soxhlet dilakukan oleh Timsina & Nadumane (2015) dengan pelarut etanol. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat belum pernah dilakukan, sehingga belum diketahui senyawa yang terekstrak. Etil asetat merupakan senyawa yang lebih polar dibandingkan n-heksana namun tidak melebihi kepolaran metanol. Dengan demikian, penggunaan pelarut etil asetat diharapkan dapat melarutkan komponen dalam kernel biji mangga yang tidak dapat diisolasi dengan pelarut n-heksana dan metanol.

Penelitian Kaur *et al* (2010) menunjukkan bahwa ekstrak metanol kernel biji mangga dengan konsentrasi 100 mg/mL bersifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Vibrio vulnificus* (*V. vulnificus*). Toksisitas ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, dilakukan uji toksisitas dengan metode BSLT. . Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan langkah awal pengujian untuk penapisan senyawa antikanker. Hewan uji yang digunakan adalah udang laut (*Brine Shrimp*) dari jenis *Artemia salina*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dan toksisitas ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung terhadap *Artemia salina*, serta mengidentifikasi komponen-komponen penyusunnya.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik Ohaus dengan ketelitian 0,0001g, timbangan digital merek Durascale dengan ketelitian 0,001 g, timbangan digital merek Cook Master dengan ketelitian 1 g, *blender*, lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, seperangkat alat gelas, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat penyaringan Buchner, seperangkat alat *Rotary Evaporator* (*Rotavapor*) merek Buchi, seperangkat alat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), seperangkat alat KLT preparatif, dan seperangkat spektrofotometer FTIR merek Varian 1000, dan seperangkat alat penetasan *Artemia salina*.

Bahan digunakan dalam penelitian ini adalah buah mangga gadung diperoleh dari pasar, akuades, telur *Artemia salina*, kloroform (p.a), iodium (p.a), larutan asam sulfat pekat (p.a), larutan asam klorida pekat (p.a), asam asetat glasial (p.a), etanol (p.a) 96%, larutan natrium hidroksida 5% dan 10%, larutan asam klorida 2M, larutan tembaga (II) sulfat 1%, reagen millon, larutan natrium nitrit 1%, reagen Meyer, larutan KOH 10%, larutan  $\alpha$ -naftol 1%, larutan Fehling A dan Fehling B, larutan FeCl<sub>3</sub> 5%, silika gel 60 GF<sub>254</sub> *for thin layer chromatography* Merck, garam dapur kasar, larutan dimetil sulfoksida (DMSO) (p.a), bahan kimia teknis yang didestilasi meliputi: n-heksana, etil asetat, metanol, dan aseton.

### **Preparasi Sampel**

Buah mangga gadung diambil bijinya kemudian dicuci bersih, diambil kernelnya, dan dipotong kecil-kecil. Kernel biji mangga gadung yang telah dipotong-potong dikeringkan di bawah sinar matahari sampai diperoleh kernel biji mangga kering dengan berat konstan kemudian dihaluskan dengan blender dan diperoleh serbuk kernel biji mangga gadung.

### **Ekstraksi Sampel**

Sebanyak 500 g serbuk kernel biji mangga gadung dimaserasi menggunakan pelarut n-heksana selama 24 jam dengan pengocokan. Maserasi dilakukan secara berulang-ulang sampai diperoleh warna filtrat (maserat) sama dengan pelarut. Selanjutnya hasil maserasi disaring menggunakan corong Buchner sehingga diperoleh filtrat dan residu. Residu selanjutnya dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat selama selama 24 jam dengan pengocokan dan dilakukan secara berulang sampai diperoleh warna filtrat (maserat) sama dengan pelarut. Hasil maserasi disaring menggunakan corong Buchner sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipekatkan dengan rotavapor hingga diperoleh maserat kental etil asetat.

### **Uji Fitokimia**

Uji fitokimia dilakukan pada ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung. Uji fitokimia yang dilakukan adalah uji alkaloid, tanin, triterpenoid, flavonoid,

saponin, karbohidrat, protein, glikosida, antrakuinon glikosida, asam amino, serta uji lemak dan minyak (Roopalatha & Nair, 2013).

### **Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina***

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan melarutkan sebanyak 25 mg ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung dalam 1,25 mL DMSO, kemudian ditambah air laut sintetik hingga 25 mL (larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm). Larutan induk diencerkan hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 800, 600, 400, 200, dan 100 ppm.

Larva *Artemia salina* sebanyak 10 ekor dimasukkan ke dalam botol vial kecil sebagai wadah uji yang berisi 4,5 mL air laut sintetik, kemudian ditambah 0,5 mL larutan ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung dengan konsentrasi 1000, 800, 600, 400, 200, 100, dan 0 ppm. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Setelah 24 jam inkubasi, dihitung *Artemia salina* yang mati dan dihitung nilai LC<sub>50</sub>.

### **Isolasi**

Ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung dianalisis secara kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen n-heksana-kloroform-etil asetat dengan perbandingan (2: 1: 1) dan (5: 2: 1), n-heksana-aseton (4,5: 0,5), dan kloroform-aseton (3: 2). Analisis KLT digunakan untuk mengetahui jumlah komponen yang terdapat pada ekstrak.

Isolasi komponen dalam ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif dengan fase diam silika gel 60 GF<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksana-kloroform-etil asetat (2: 1: 1). Pita yang tampak dikerok, dilarutkan dalam etanol 96%, dan disaring. Filtrat yang dihasilkan dianalisis KLT dan diidentifikasi wujud dan warna, uji fitokimia, serta analisis secara spektrofotometri IR.

### **Identifikasi Senyawa hasil Isolasi**

Identifikasi senyawa hasil isolasi meliputi analisis wujud dan warna, uji fitokimia, serta analisis secara spektrofotometri IR. Langkah-langkah yang dilakukan secara umum sebagai berikut.

### ***Analisis Wujud dan Warna***

Senyawa hasil isolasi dianalisis wujud dan warnanya untuk mengidentifikasi sifat fisik dari senyawa tersebut. Analisis wujud dan warna dilakukan dengan cara pengamatan secara visual.

### ***Uji Fitokimia***

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa bahan alam yang terdapat pada senyawa hasil isolasi. Uji fitokimia yang dilakukan sebagai berikut.

#### **Uji Tanin**

Sebanyak 1 mL sampel ditetesi 5 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5%. Timbulnya warna biru sampai hitam pada larutan menunjukkan uji positif untuk tanin.

#### **Uji Triterpenoid**

Sebanyak 1 mL sampel ditambah 1 mL kloroform kemudian ditambah 3-4 tetes asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Uji positif triterpenoid ditandai dengan terbentuknya larutan warna merah kecoklatan.

#### **Uji Flavonoid**

Sebanyak 1 mL sampel ditambah 5 tetes larutan NaOH 5%. Uji positif flavonoid ditandai berubahnya larutan berwarna kuning atau merah muda menjadi tidak berwarna pada penambahan 4-5 tetes HCl 2M.

#### **Uji Saponin**

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dikocok selama 5 menit. Uji positif saponin ditandai dengan terbentuknya buih atau busa.

#### **Uji Karbohidrat**

##### **Uji Molish**

Sebanyak 1 mL sampel ditambah 4-5 tetes  $\alpha$ -naftol 1% dan ditambah 2-3 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Uji positif ditandai dengan terbentuk cincin ungu diantara dua lapisan cair.

### ***Analisis secara Spektrofotometri IR***

Analisis spektrofotometri IR dilakukan dengan cara mencampur 3 mg senyawa hasil isolasi KLT preparatif dengan serbuk kering kalium bromida (KBr) secara homogen, kemudian digerus sampai kehalusan tertentu. Serbuk halus selanjutnya dibuat dalam bentuk pellet (lapisan tipis). Pellet kemudian dianalisis dengan spektrofotometer IR pada bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Pita serapan yang khas pada bilangan gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat pada senyawa tersebut.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung mengandung senyawa golongan tanin, triterpenoid, flavonoid, saponin, dan karbohidrat. Hasil uji fitokimia ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kernel Biji Mangga Gadung**

Komponen yang diuji	Ekstrak etil asetat kernel biji mangga Gadung
Alkaloid	-
Tanin	+
Triterpenoid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Karbohidrat (uji Molish)	+
Karbohidrat (uji Fehling)	+
Protein	-
Glikosida	-
Antarakuinon Glikosida	-
Asam Amino	-
Lemak dan Minyak	-

Uji toksisitas ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung dapat mengakibatkan kematian larva udang *Artemia salina*. Hasil uji toksisitas ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung ditunjukkan pada Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung yang dapat membunuh 50% populasi *Artemia salina* (mortalitas) adalah sekitar konsentrasi 800 ppm. Analisis lebih lanjut dilakukan dengan analisis probit. Dari analisis probit diperoleh nilai  $\text{LC}_{50}$  ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung

sebesar 824 ppm. Nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat biji mangga gadung bersifat toksik terhadap *Artemia salina*. Hasil uji fitokimia dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung mengandung senyawa tanin, triterpenoid, flavonoid, dan saponin. Jadi toksisitas ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung terhadap *Artemia salina* diduga disebabkan oleh senyawa-senyawa tersebut.

**Tabel 4.2 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Kernel Biji Mangga Gadung**

Konsentrasi larutan (ppm)	Ulangan ke-	<i>Artemia salina</i> sebagai hewan uji					Log kons. (x)	Nilai probit (y)
		Jumlah hewan uji	Jumlah yang mati	Rata-rata yang mati	% yang mati (M)	% mati terkoreksi (MT)		
0	1	10	3					
	2	10	2					
	3	10	2	1,6	16	-	-	-
	4	10	0					
	5	10	1					
100	1	10	1					
	2	10	2					
	3	10	3	2,4	24	10	2	3,72
	4	10	4					
	5	10	2					
200	1	10	4					
	2	10	2					
	3	10	2	3,0	30	17	2,30	4,05
	4	10	3					
	5	10	4					
400	1	10	4					
	2	10	4					
	3	10	4	4,0	40	29	2,60	4,45
	4	10	3					
	5	10	5					
600	1	10	5					
	2	10	4					
	3	10	5	4,8	48	38	2,78	4,69
	4	10	6					
	5	10	4					
800	1	10	6					
	2	10	5					
	3	10	6	5,8	58	50	2,90	5,00
	4	10	6					
	5	10	6					
1000	1	10	8					
	2	10	6					
	3	10	7	6,6	66	60	3	5,25
	4	10	7					
	5	10	5					

**Keterangan: Kons: Konsentrasi**  
**M: Mortalitas**  
**MT: Mortalitas Terkoreksi**

Hasil isolasi ekstrak etil asetat kernel biji mangga gadung dengan kromatografi lapis tipis diperoleh komponen P1 dan P2. Komponen P1 dan P2 merupakan padatan tidak berwarna. Uji fitokimia komponen P1 dan P2 positif terhadap uji flavonoid yang ditandai dengan memudarnya warna merah muda menjadi tidak berwarna setelah penambahan HCL 2M. Hasil dari analisis secara spektrofotometri IR didapatkan spektrum IR komponen P1 ditunjukkan pada Gambar 1 dan spektrum IR komponen P2 tertera pada Gambar 2.



**Gambar 1. Spektrum IR Komponen P1**



**Gambar 2. Spektrum IR Komponen P2**

Hasil spektrum IR komponen P1 dan P2 menunjukkan pita serapan yang khas gugus O-H, gugus C-H alkana, gugus C=O ester, gugus C=C aromatik, gugus C-O eter, dan gugus C-H aromatik. Gugus-gugus tersebut umumnya terdapat pada struktur flavonoid. Dari uji fitokimia dan analisis spektrum IR komponen P1 dan P2 diduga merupakan senyawa golongan flavonoid.

## KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat kernel biji mangga varietas gadung mengandung senyawa golongan tanin, triterpenoid, flavonoid, saponin, dan karbohidrat, serta bersifat toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> 824 ppm. Hasil identifikasi komponen P1 dan P2 berupa padatan tidak berwarna, positif terhadap uji flavonoid, dan mempunyai gugus O-H, gugus C-H alkana, gugus C=O ester, gugus C=C aromatik, gugus C-O eter, dan gugus C-H aromatik. Komponen P1 dan P2 diduga merupakan senyawa golongan flavonoid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura. 2017. Produksi Mangga Menurut Provinsi, 2012-106. (Online). ([http://www.pertanian.go.id/ap\\_pages/mod/datahorti](http://www.pertanian.go.id/ap_pages/mod/datahorti)), diakses tanggal 20 April 2017.
- Joyce, O.O., Latayo, B.M., Onyinye, A.C. 2014. Chemical Composition and Phytochemical Properties of Mango (*Mangifera indica*) Seed Kernel. *International Journal of Advanced Chemistry*, 2 (2): 185-187.
- Kaur, J., Rathinam, X., Kasi, M., Leng, M.K., Ayyalu, R., Kathiresan, S., Subramaniam, S. 2010. Preliminary Investigation on the Antibacterial Activity of Mango (*Mangifera indica* L: Anacardiaceae) Seed Kernel. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 707-710.
- Rajan S, Thirunalasundari T, Jeeva S. 2011. Anti-enteric Bacterial Activity and Phytochemical Analysis of the Seed Kernel Extract of *Mangifera indica* Linnaeus Against *Shigella dysenteriae* (Shiga, corrig.) Castellani and Chalmers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 294-300.
- Roopalatha, U.C and Nair, V.M. (2013) Phytochemical Analysis of Successive Reextracts of The Leaves of *Mangifera Oleifera* Lam. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5: 629-634
- Timsina, B. & Nadumane, V.K., 2015. Mango Seeds: A Potensial Source The Isolation of Bioactive Compounds with Anti-Cancer Activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7 (S1).