

## **Pengujian racun ekstrak metanol dari biji mangga (*Mangifera indica* L.) varietas gadung pada *Artemia salina* dan identifikasi bahan kimianya.**

**Nantika Sari, Siti Marfu'ah, dan Dedek Sukarianingsih**

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Malang

Email: tikanantika@gmail.com; siti.marfuah.fmipa@um.ac.id; dedek.sukarianingsih.fmipa@um.ac.id

**Abstrak:** Penelitian tentang toksisitas ekstrak metanol kernel biji mangga gadung dan isolasi komponen penyusunnya telah dilakukan. Hasil penelitian yang diperoleh: 1) Hasil uji fitokimia pada ekstrak metanol kernel biji mangga positif mengandung tanin, triterpenoid, flavonoid, saponin, dan karbohidrat. 2) Ekstrak metanol kernel biji mangga bersifat tidak toksik terhadap *Artemia salina* dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 1609,9 ppm. 3) Isolasi ekstrak metanol kernel biji mangga menggunakan KLTP diperoleh 3 komponen yaitu T1, T2, dan T3. Berdasarkan uji fitokimia menunjukkan komponen T1 positif terhadap tanin, sedangkan T2 dan T3 positif terhadap flavonoid. Analisis dengan spektrofotometri IR pada komponen T1 menunjukkan pita serapan gugus O-H, ikatan C-H alkana, gugus C=O, dan ikatan C=C yang umumnya terdapat pada struktur tanin. Komponen T2 dan T3 menunjukkan pita serapan gugus O-H, ikatan C-H alkana, gugus C=O aromatik, ikatan C=C alkena, dan ikatan C-O yang umumnya terdapat pada struktur flavonoid.

**Kata Kunci:** Mangga, ekstrak metanol, uji toksisitas, BSLT,  $LC_{50}$ , isolasi

**Abstract:** The research about toxicity in methanol extract of gadung mango's kernel seed and its component isolation have been done. The result are: 1) Phytochemical compounds on methanol extract of kernel seed from gadung kernel revealed the presence of tannin, triterpenoid, flavonoid, saponin, and carbohydrate. 2) The methanol extract of gadung mango's seed kernel was not toxic for brine shrimp with the  $LC_{50}$  values were 1609,9 ppm. 3) Isolation of methanol extract on mango seed kernels using preparative TLC obtained 3 components consisting of T1, T2, and T3. Based on the phytochemical test showed T1 component is positive to tannin, whereas T2 and T3 were positive to flavonoids. The analysis by IR spectrophotometry on T1 component shows the absorption band of the O-H group, the C-H alkane bonds, the C=O group, and the C=C bonds are commonly present in the tannin structure. The T2 and T3 components show the absorption bands of the O-H groups, the C-H alkanes, C=O aromatic groups, the C=C alkenes, and the C-O bonds are commonly present in the flavonoid structure.

**Keyword:** Mango, methanol extract, toxicity test, BSLT,  $LC_{50}$  values, isolation

Mangga (*Mangifera indica* Linn) merupakan buah tropis yang tersebar di Asia Tenggara khususnya Indonesia. Data Kementerian Pertanian RI tahun 2015 menunjukkan bahwa produksi buah mangga mencapai 2.178.326 ton (Taufik dan Promosiana, 2015). Salah satu varietas mangga yang jumlah produksinya cukup tinggi terutama di Jawa Timur adalah mangga gadung (Soemarno, 2011). Buah mangga gadung dikonsumsi daging buahnya secara langsung atau dijadikan produk olahan seperti jus, manisan, dan buah kaleng, sedangkan bagian lain dari buah mangga gadung yang belum dimanfaatkan dan merupakan bahan sisa yaitu biji mangga. Rahmawati dkk (2012) menyatakan di Indonesia jumlah biji mangga berbagai varietas termasuk biji

mangga gadung sangat melimpah yaitu sebesar 1 juta ton tiap tahunnya. Dalam biji mangga terdapat kernel biji mangga mengandung berbagai senyawa yang bermanfaat dan belum dimanfaatkan secara maksimal.

Ekstraksi kernel biji mangga Chokanan dengan metode maserasi dilakukan oleh Kaur *et al* (2010) menggunakan pelarut metanol. Ekstraksi kernel biji mangga Sudan dengan metode soxhlet dilakukan oleh Awad *et al* (2012) menggunakan pelarut metanol dan etanol. Jenis mangga yang diteliti di Indonesia adalah mangga arum manis yang dilakukan oleh Prihandayani *et al* (2016) menggunakan metode perkolasi dan pelarut etanol. Dari beberapa ekstraksi tersebut diperoleh bahwa kernel biji mangga mengandung berbagai senyawa, diantaranya senyawa mangiferin (Sa´nchez *et al*, 2000), glikosida, saponin, flavonoid, senyawa fenolik berupa tanin, alkaloid (Kaur *et al*, 2010), triterpenoid dan saponin (Awad *et al*, 2012).

Penelitian-penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstraksi kernel biji mangga gadung dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol belum dilakukan. Diharapkan dengan menggunakan pelarut metanol dapat diekstrak senyawa polar tahap akhir ekstraksi (tahap awal digunakan pelarut *n*-heksana lalu etil asetat).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Timsina *et al* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji mangga dari Bangalore India memiliki potensi yang menjanjikan sebagai sumber senyawa bioaktif baru antikanker dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar <10 µg/mL. Prihandayani *et al* (2016) menyatakan bahwa ekstrak metanol kernel biji mangga arum manis memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aerus*, *Bacillus subtilis*, *Shigella sp*, *Escherichia coli*. Penelitian terdahulu, belum melaporkan tentang toksisitas kernel biji mangga gadung serta kandungan senyawa didalamnya, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang toksisitas kernel biji mangga gadung. Salah satu metode yang digunakan untuk uji toksisitas adalah BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

Metode BSLT merupakan langkah skrining awal senyawa antikanker dengan menggunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina*. Hasil uji BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Senyawa dengan nilai LC<sub>50</sub><1000 ppm dianggap toksik menurut Meyer *et al* (1982). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa, toksisitas ekstrak, serta mengidentifikasi hasil isolasi komponen dari ekstrak metanol kernel biji mangga gadung.

## **METODE PENELITIAN**

## **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat gelas, spatula, seperangkat alat destilasi, seperangkat alat maserasi, blender, neraca analitik Durascale dengan ketelitian 0,001 g, neraca digital CookMaster dengan ketelitian 1 g, corong Buchner, *rotary evaporator (rotavapor)* merk Buchi, seperangkat alat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), seperangkat alat KLT preparatif, lampu UV<sub>254</sub> nm merk M, lampu UV<sub>366</sub> nm merk Camag, akuarium, aerator, botol vial, dan spektrofotometer Varian 1000 FT-IR.

Bahan yang digunakan adalah mangga gadung yang diperoleh dari pasar tradisional kota Malang, akuades, garam dapur kasar, telur *Artemia salina*, larutan FeCl<sub>3</sub> 5%, larutan gelatin 1%, larutan NaCl 10%, larutan HCl 2 M, larutan NaOH 5%, larutan KOH 10%, larutan  $\alpha$ -naftol 1%, larutan CuSO<sub>4</sub> 1%, larutan NaOH 10%, larutan NaNO<sub>2</sub> 1%, larutan HCl pekat, reagen Mayer, kloroform (p.a), larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, larutan asam asetat glasial, larutan Fehling A dan Fehling B, reagen Millon, etanol 97%, diklorometana/ DCM (p.a), dimetil sulfoksida/ DMSO (p.a), plat KLT, silika gel 60 GF<sub>254</sub>, kertas saring, metanol (teknis), *n*-heksana (teknis), etil asetat (teknis), aseton (teknis), toluena (teknis).

## **Prosedur Penelitian:**

### **Preparasi Sampel**

Biji mangga gadung sebanyak 1919 g dibersihkan, diambil bagian dalam biji mangga, dipotong kecil-kecil, dikeringkan hingga diperoleh berat biji mangga konstan, dan diblender.

### **Ekstraksi Kenel Biji Mangga Gadung**

Serbuk biji mangga dimaserasi dengan *n*-heksana dan dilanjutkan dengan pelarut etil asetat kemudian disaring. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah residu kernel yang dihasilkan dari maserasi menggunakan kedua pelarut tersebut. Residu kernel biji mangga gadung diamserasi dengan 750 mL metanol selama 10×24 jam dengan ketentuan dilakukan penyaringan dan pergantian pelarut setiap 24 jam. Fitrat yang dihasilkan selama 10 hari kemudian diuapkan menggunakan *rotavapor* hingga diperoleh ekstrak kental metanol kernel biji mangga gadung.

### **Uji Fitokimia**

Uji fitokimia ekstrak metanol kernel biji mangga gadung yang dilakukan sesuai dengan metode Roopalatha dan Mala (2013).

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

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan 25 mg ekstrak metanol kernel biji mangga gadung dengan 1,25 mL DMSO dan ditambah air laut sintetik hingga tepat 25 mL, larutan ini akan menjadi larutan induk (1000 ppm) yang nantinya diencerkan menjadi konsentrasi 800, 600, 400, 200, dan 100 ppm. Sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* dalam 4,5 mL air laut dimasukkan dalam masing 7 botol vial, kedalam botol vial tersebut selanjutnya ditambahn 0,5 mL larutan uji dengan konsentrasi yang telah dibuat sebelumnya, sedangkan 1 botol vial yang lain digunakan untuk kontrol negatif. Semua botol vial tersebut selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dan dihitung jumlah larva *Artemia salina* yang mati setelah 24 jam. Larva *Artemia salina* dianggap mati jika tidak ada gerakan selama 10 detik (Thong *et al*, 2013). Nilai LC<sub>50</sub> diperoleh dengan menggunakan analisis probit yaitu data yang diperoleh dibuat kurva hubungan antara % kematian larva *Artemia salina* vs konsentrasi sampel uji. Dari kurva tersebut dihitung LC<sub>50</sub> berdasarkan persamaan regresi  $y = ax+b$ .

#### **Analisis KLT dan Isolasi Komponen dengan KLT Preparatif**

Ekstrak metanol biji mangga yang diperoleh dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) yang bertujuan untuk memperoleh eluen yang tepat yang dapat memisahkan komponen senyawa dalam ekstrak. eluen yang digunakan dalam analisis KLT yaitu: *n*-heksana-etil asetat-kloroform (1:2,5:0,5), *n*-heksana-etil asetat-kloroform (1:2:0,5), diklorometana-etil asetat (1:1), dan *n*-heksana-etil asetat (1:3).

Isolasi komponen dari ekstrak metanol kernel biji mangga gadung dilakukan dengan KLT preparatif. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub> dan fase geraknya adalah *n*-heksana-etil asetat (1:3). Pita noda yang terbentuk dikerok, kemudian dilarutkan dengan etanol dan disaring. Filtrat yang diperoleh diuapkan hingga pelarutnya menguap dan selanjutnya dianalisis wujud, warna, uji fitokimia, dan dianalisis dengan spektrofotometri IR.

#### **Identifikasi Komponen Hasil Isolasi**

##### **Analisis Wujud, Warna, dan Uji Fitokimia**

Masing-masing komponen hasil isolasi yang telah menguap dianalisis meliputi pengamatan wujud dan warnanya, uji fitokimia sesuai hasil positif uji fitokimia pada tahap sebelumnya. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa senyawa murni hasil isolasi sesuai dengan hasil uji fitokimia pada tahap awal.

##### **Analisis dengan Spektrofotometri IR**

Sebanyak 1 mg sampel dicampur dengan serbuk kalium bromida, kemudian dihaluskan dan dibentuk menjadi pelet kalium bromida. Pelet kalium bromida ini dianalisis dengan spektrofotometer IR pada panjang gelombang 4000-400  $\text{cm}^{-1}$ . Pita-pita serapan yang dihasilkan pada daerah tersebut selanjutnya digunakan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam komponen hasil isolasi ekstrak metanol kernel biji mangga gadung.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Preparasi Sampel dan Ekstraksi Kenel Biji Mangga Gadung

Kernel biji mangga gadung sebanyak 1919 g dikeringkan hingga diperoleh kernel biji kering dengan berat konstan sebanyak 555 g, sehingga diperoleh kadar air sebesar 71,07%. Dari ekstraksi serbuk kernel biji mangga diperoleh ekstrak kental yang diperoleh berwarna coklat kehitaman dengan berat 29,900 g sehingga diperoleh rendemen sebesar 5,98%.

### Uji Fitokimia

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kental metanol biji mangga gadung disajikan pada Tabel 1.:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kental Metanol Biji Mangga Gadung

Komponen yang diuji	Hasil uji fitokimia ekstrak biji mangga gadung
Tanin	+
Alkaloid	-
Triterpenoid	+
Flavonoid	+
Saponin	+
Glikosida Kardioaktif	-
Glikosida Antrakuinon	-
Karbohidrat	+
Protein	-
Asam Amino	-
Lemak dan Minyak	-

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji mangga positif terhadap tanin triterpenoid, flavonoid, saponin, dan karbohidrat.

### Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Uji toksisitas ekstrak metanol kernel biji mangga gadung dilakukan sebanyak lima kali perulangan dengan menggunakan 10 ekor *Artemia salina* sebagai hewan uji. Hasil uji BSLT ekstrak metanol kernel biji mangga gadung tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Metanol 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	% mati terkoreksi		
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	2	2,0	20	5	2,00	3,36
	4	10	3					
	5	10	2					
200	1	10	3					
	2	10	2					
	3	10	2	2,6	26	12	2,30	3,82
	4	10	2					
	5	10	4					
400	1	10	3					
	2	10	3					
	3	10	3	3,0	30	17	2,60	4,05
	4	10	3					
	5	10	3					
600	1	10	3					
	2	10	3					
	3	10	3	3,4	34	21	2,78	4,19
	4	10	4					
	5	10	4					
800	1	10	4					
	2	10	4					
	3	10	4	4,0	40	29	2,90	4,45
	4	10	4					
	5	10	4					
1000	1	10	5					
	2	10	4					
	3	10	4	4,6	46	36	3,00	4,64
	4	10	5					
	5	10	5					

Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak metanol kernel biji mangga bersifat tidak toksik karena hingga konsentrasi 1000 ppm tidak dapat membunuh 50% jumlah populasi *Artemia salina*. Hal ini dapat dibuktikan dengan analisis lebih lanjut menggunakan probit. Berdasarkan analisis probit diperoleh persamaan regresi  $y = 1,5286x + 0,0981$ . Nilai LC50 diperoleh dari antilog x, setelah dihitung diperoleh LC50

ekstrak metanol kernel biji mangga gadung sebesar 1609,9 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bersifat tidak toksik.

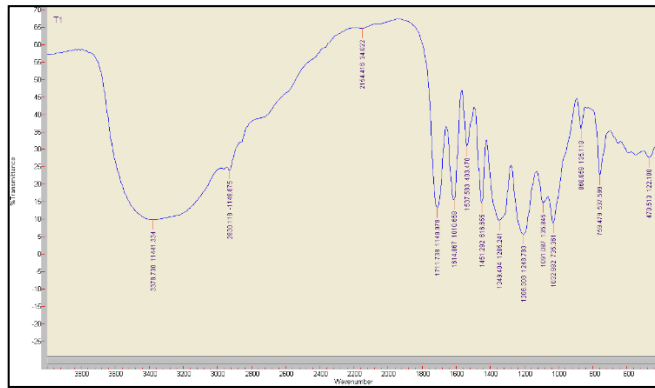
### **Analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Berdasarkan analisis KLT diperoleh eluen yang dapat memisahkan memisahkan noda dengan baik adalah *n*-heksana: etil asetat (1:3). Isolasi komponen dari ekstrak metanol kernel biji mangga gadung menggunakan KLT preparatif diperoleh 3 pita noda dengan kode T1, T2, dan T3.

### **Identifikasi Komponen Hasil Isolasi**

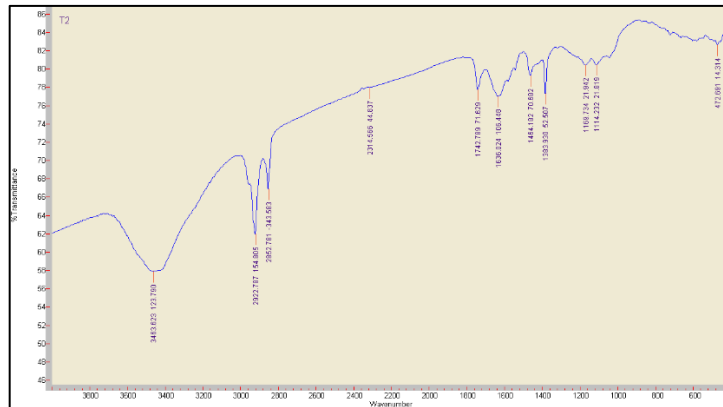
Komponen T1 berupa padatan berwarna kuning, komponen T2 dan T3 berupa padatan berwarna putih. Hasil uji fitokimia komponen T1, T2, dan T3 menunjukkan bahwa komponen T1 positif terhadap tanin, komponen T2 dan T3 positif terhadap flavonoid. Hasil spektrum IR kompoenn T1, T2, dan T3 secara berturut-turut terdapat pada Gambar 1, 2, dan 3.

Gambar 1 menunjukkan bahwa komponen T1 memiliki pita-pita serapan yang khas untuk gugus O-H, ikatan -C-H, ikatan ganda C=C aromatik, dan gugus C=O yang umumnya terdapat pada struktur dasar tanin. Hal ini sesuai dengan uji fitokimia komponen T1 yang menunjukkan hasil positif terhadap tanin, sehingga komponen T1 merupakan senyawa tanin.

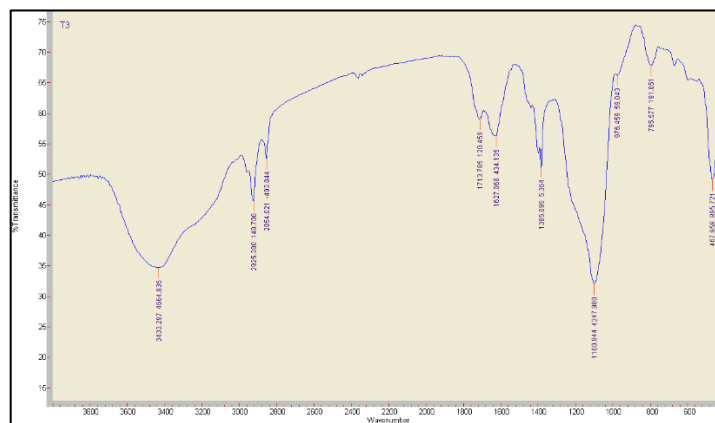


**Gambar 1. Spektrum IR Komponen T1**

Gambar 2 dan 3 menunjukkan bahwa komponen T2 dan T3 memiliki menunjukkan bahwa komponen T2 memiliki pita serapan yang khas untuk gugus O-H, ikatan -C-H, gugus C=O, ikatan C=C alkena, ikatan C=C aromatik, dan ikatan C-O eter yang umumnya terdapat dalam struktur dasar golongan flavonoid. Hal ini juga sesuai dengan hasil uji fitokimia komponen T2 dan T3 yang positif terhadap flavonoid. Dengan demikian komponen T2 dan T3 diduga merupakan golongan flavonoid.



Gambar 2. Spektrum IR Komponen T2



Gambar 3. Spektrum IR Komponen T3

## KESIMPULAN

Ekstrak metanol kernel biji mangga positif mengandung tanin, triterpenoid, flavonoid, saponin, dan karbohidrat. Ekstrak metanol kernel biji mangga gadung bersifat tidak toksik terhadap *Artemia salina* karena memiliki nilai  $LC_{50} > 1000$  ppm yaitu sebesar 1609,9 ppm. Hasil isolasi ekstrak metanol kernel biji mangga mengandung 3 komponen, T1 diduga merupakan golongan tanin karena adanya gugus O-H, ikatan -C-H alkana, gugus C=O, dan ikatan C=C yang umumnya terdapat pada struktur tanin. Komponen T2 dan T3 diduga merupakan golongan flavonoid karena adanya gugus O-H, ikatan -C-H alkana, gugus C=O, ikatan C=C aromatik, ikatan C=C alkena, dan ikatan C-O yang umumnya terdapat pada struktur flavonoid.

## DAFTAR PUSTAKA

Awad, A. A., Joseph, M. R., Mahmoud, I. M., Abdelkareem, A. M., Hakami, A. M., Hamid, M. E. 2012. *Antimicrobial Activities of Seed Extracts of Mango (Mangifera indica L.) Scientific Research*; 2, 571-576.

- Kaur, J., Rathinam, X., Kasi, Marimuthu, K., Leng, K. M., Ayyalu, R., Kathiresan, S., Subramaniam, S. 2010. *Preliminary Investigation on the Antibacterial Activity of Mango (Mangifera indica L: Anardiaceae) Seed Kernel. Asian Pasific Journal of Tropical Medicine; 707-710.*
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. McLaughlin, J. L. 1982. *Brine Shrimp : a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. Journal of Medicinal Plant Research. 45,pp. 31-34.*
- Prihandayani, S. S., Noor, S. M., Andriani, Poeloenan, M. 2016. Efektivitas Ekstrak Biji Mangga Harumanis terhadap Staphylococcus aerus, Bacillus subtilis, Shigella sp., dan Escherichia coli. *Jurnal Veteriner. Vol. 17 No.1: 45-50.*
- Rahmawati, F. H., Kartikawati, I., Anshory, M. I., Haryanti, T. 2012. Es Sumsum dari Limbah Pelok Mangga Tuo. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Roopalatha, U. C. dan Mala, V. 2013. *Analysis pof Successive Reextracts of the Leaves of Moringa Pleifera lam. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Vol 5.*
- Sa´nchez, G. M., Re, L., Giuliani, A., Nunez, A. J., Davison, G. P., Leon, O. S. 2000. *Protective Effects of Mangifera indica L. Extract, Mangiferin and Selected Antioxidants Againts Tra-induced Biomolecules Oxidation and Peritoneal Macrophage Activation in Mice. Pharmacological Research, Vol. 42. No. 6.*
- Soemarno. 2011. Optimalisasi Sistem Agribisnis Mangga Dalam Rangka Memenuhi Ekspor Non-Migas Jawa Timur. Malang: Universitas Brawijaya.
- Taufik, Y., Promosiana, A. 2015. Statistik Produksi Holtikultura Tahun 2014. Jakarta: Direktorat Henderal Holtikultura Kementrian Pertanian.
- Timsina, B. & Nadumane, V. K. 2015. *Mango Seeds: A Potential Source For The Isolation Of Bioactive Coumpounds With Anti-cancer Activity. Vol.7. India. International Journal of Pharmaccy and Pharmaceutical Sciences.*
- Thong, O. M., Geethaa, S., Thavamany, P. J., Chiew, S. P. 2013. *Interference From Ordinarily Used Solvents in the Outcomes of Artemia salina Lethality Test. Journal of Advanced Pharaceutical Technology & Research. Vol 4*