

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Mangga Bapang (*Mangifera indica* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Cytotoxic Activity Test of Mango Bapang (*Mangifera indica* L.) Leaf Extracts and Fractions with Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method

¹Marjoni Hendri, ²Leni Purwanti, ³Esti Rachmawati Sadiyah

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Prngetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116

email: ¹hendri.marjoni83@gmail.com, ²purwanti.leni@gmail.com, ³esti_sadiyah@ymail.com

Abstract. Cytotoxic activity test of mango bapang (*Mangifera indica* L.) leaf extracts and fractions with *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method has been conducted. Mango bapang leaves were extracted with 96% ethanol and fractionated extracts obtained by liquid-liquid extraction. Cytotoxic test of extracts and fractions obtained were using 24 concentrations in the range of 0-500 ppm, interval 25 ppm. Cytotoxic test extracts and fractions using BSLT with probit analysis. LC₅₀ value of the ethanol extract was 416.87 ppm, fractions containing alkaloids neutral/weak base was 239.88 ppm, fractions containing quaternary alkaloid was 331.13 ppm, and the fractions containing the alkaloid bases was 245.47 ppm. Based on the test results on *Artemia salina* larva of extracts and fractions from mango bapang leaves can be concluded to provide a cytotoxic effect because it has LC₅₀ values of less than 1000 ppm.

Keywords: Cytotoxic test, Mango bapang leaf, *Brine Shrimp Lethality Test*.

Abstrak. Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi daun mangga bapang (*Mangifera indica* L.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) telah dilakukan. Daun mangga bapang diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dan ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan ekstraksi cair-cair. Pengujian sitotoksik ekstrak dan fraksi yang diperoleh dilakukan dengan 24 konsentrasi dengan kisaran 0-500 ppm, interval 25 ppm. Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi-fraksi menggunakan metode BSLT dengan analisis probit. Nilai LC₅₀ yang diperoleh untuk ekstrak etanol 416,87 ppm, fraksi yang mengandung alkaloid netral/basa lemah 239,88 ppm, fraksi yang mengandung alkaloid kuartener 331,13 ppm, dan fraksi yang mengandung alkaloid basa 245,47 ppm. Berdasarkan hasil uji terhadap larva *Artemia salina* dari ekstrak dan fraksi daun mangga bapang dapat ditimbulkan memberikan efek sitotoksik karena mempunyai nilai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm.

Kata Kunci: Uji sitotoksik, daun mangga bapang, *Brine Shrimp Lethality Test*.

A. Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyakit kronis yang menjadi penyebab kematian terbesar kedua di negara-negara maju di dunia setelah jantung koroner. Laporan *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa jumlah kasus kanker diperkirakan sedikitnya akan menjadi dua kali lipat di kebanyakan negara sepanjang 25 tahun mendatang (Siswandono, 1983:3).

Salah satu metode awal yang sering dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* L. yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC₅₀ (*Lethality Concentration*) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Senyawa dengan LC₅₀ < 1000 µg/ml dapat dianggap sebagai suatu senyawa aktif sebagai antikanker (Meyer *et al*, 1982:31-34).

Menurut Somkuwar dan Vilas (2013:343) daun *Mangifera indica* L. mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, resin, asam amino, phitosterol, tanin,

karbohidrat dan protein. Daun mangga bapang (*Mangifera indica* L. bapang) menunjukkan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, steroid dan fenol (Purwanti, 2016:30).

Berdasarkan informasi di atas diketahui bahwa, daun mangga bapang mengandung berbagai senyawa. Namun sejauh mana yang telah diteliti, belum ada publikasi mengenai aktivitas sitotoksik dari ekstrak dan fraksi daun mangga bapang. Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk menguji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun tumbuhan tersebut.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji ekstrak dan fraksi daun mangga bapang yang mempunyai aktivitas sitotoksik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Landasan Teori

Tumbuhan mangga (*Mangifera indica* L.) berasal dari India menyebar ke arah Timur menuju Malaysia, Indonesia, dan sekitarnya. (Pracaya, 2005:5) Taksonomi mangga bapang adalah sebagai berikut (Cronquist, 1981:805-808) :

Kerajaan : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Anak kelas : Rosidae
 Bangsa : Sapindales
 Suku : Anacardiaceae
 Marga : *Mangifera*
 Jenis : *Mangifera indica* L.

Tanaman mangga merupakan tanaman pohon tegak, bercabang, dan memiliki diameter batang 60 – 120 cm, dengan akar yang panjang. Daun muda biasanya berwarna kemerahan, berubah gelap mengkilap hijau, panjang tangkai daun hingga 10 cm, daun berbentuk elips (lonjong) dengan panjang 8-40 cm x 2-10 cm, permukaan daun sedikit kasar, tepi daun bergelombang, dan ujung pangkal daun meruncing (Sukonthasing *et al*, 1992:212).

Daun mangga dapat digunakan untuk pengobatan asam urat, varises, luka bakar, pilek, batuk, wasir, diare, disentri, masalah pernafasan, sakit gigi, sifilis, kencing manis, mengurangi gatal dan kurang darah (Shah *et al*, 2010:42-48).

Uji sitotoksik merupakan suatu metoda yang digunakan untuk menentukan apakah senyawa atau ekstrak berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker atau tidak (Hartati, dkk., 2003:198). BSLT merupakan salah satu metode uji toksisitas untuk menguji bahan-bahan yang bersifat sitotoksik. Uji toksisitas dengan metode BSLT merupakan uji toksisitas akut, yaitu efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian dosis uji (Wibowo, dkk, 2013:98).

Metode BSLT didasarkan pada prinsip penentuan nilai *Lethal Concentration* (LC₅₀) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach). LC₅₀ adalah kemampuan suatu senyawa menyebabkan kematian 50% larva udang, menyatakan bahwa pengujian sitotoksik dilakukan untuk melihat suatu senyawa memiliki potensi sitotoksik terhadap sel dengan parameter nilai LC₅₀<1000 ppm (Meyer, 1982:31-34).

B. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah daun mangga (*Mangifera indica* L.) varietas Bapang yang diperoleh dari daerah Majalaya. Determinasi bahan dilakukan di *Herbarium Bandungense*, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Daun mangga bapang kemudian diolah menjadi simplisia dengan melewati beberapa tahap meliputi sortasi basah, pencucian, pengeringan dan penggilingan .

Penapisan fitokimia serbuk simplisia, ekstrak, dan fraksi meliputi pemeriksaan senyawa alkaloid, flavonoid, polifenolat, saponin, tanin, kuinon, steroid dan triterpenoid, monoterpen dan sesquiterpen. Hasil yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia

Golongan Senyawa	Identifikasi				
	Simplisia	Ekstrak etanol 96%	Fraksi alkaloid netral/basa lemah	Fraksi alkaloid basa	Fraksi alkaloid kuartener
Alkaloid	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+
Polifenolat	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	-	-	+
Tanin	+	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+	+
Monoterpen dan Sesquiterpen	+	-	x	x	x
Triterpen dan Steroid	+	+	x	x	x

Keterangan :

+ : Terdeteksi

- : Tidak Terdeteksi

x : Tidak Dikerjakan

Pemeriksaan karakteristik simplisia dilakukan melalui pengujian kadar abu total, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, susut pengeringan dan kadar air. Dimana pemeriksaan karakteristik tersebut untuk menjamin agar simplisia yang diteliti memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Hasil karakterisasi simplisia dapat dilihat pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. Parameter Uji

No.	Parameter uji	Hasil rata-rata (%)
1.	Kadar air	9,105
2.	Kadar abu total	4,285
3.	Kadar abu tidak larut asam	0,75
4.	Susut pengeringan	10,365
5.	Kadar sari larut air	20,420
6.	Kadar sari larut etanol	17,368

Daun mangga bapang (*Mangifera indica* L.) pertama diekstraksi dengan pelarut n-heksana untuk memisahkan senyawa yang nonpolar. Selanjutnya residu diremasekasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil ekstrak etanol yang dipekatkan atau kental sebanyak 76,71 gram dengan rendemen 15,342%. Selanjutnya proses fraksinasi alkaloid dari ekstrak etanol 96% daun mangga bapang, dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan golongan senyawa alkaloid yang bersifat netral atau basa (Cordell, 1981:14).

Fraksinasi alkaloid dilakukan dengan menambahkan asam asetat pada ekstrak etanol sampai suasana asam pH 3-4, sehingga alkaloid akan membentuk garam alkaloid yang larut dalam air. Selanjutnya garam alkaloid ini dipartisi dengan etil asetat, sehingga membentuk dua lapisan. Yaitu lapisan etil asetat (alkaloid netral/basa lemah) dengan pH 6 sebanyak 8,25 gram (rendemen 27,5 %), dan lapisan asam. Lapisan asam tersebut ditambahkan ammonium hidroksida sampai suasana basa (pH

9-10) untuk membebaskan alkaloid. Berikutnya lapisan tersebut dipartisi dengan etil asetat sehingga terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan alkaloid basa (pH 8) dengan rendemen 3,067% dan lapisan alkaloid kuarterner (pH 7) dengan rendemen 61,88%.

Berdasarkan Tabel 3. dapat diketahui bahwa jumlah kematian larva mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi uji. Hal ini menunjukkan bahwa adanya aktivitas sitotoksik dari masing-masing sediaan uji.

Tabel 3. Hasil Pengujian Aktivitas Sitotoksik

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata Jumlah Larva Mati Pada Sampel Uji			
	Ekstrak etanol	Fraksi alkaloid netral/basa lemah	Fraksi alkaloid kuarterner	Fraksi alkaloid basa
0	0	0	0	0
5	0	0	0	0
10	0	0,67	0	0,33
25	0	0,67	0,67	0,67
50	1,00	1,67	1,00	0,67
75	1,33	1,67	1,33	0,67
100	1,67	2,00	1,67	1,33
125	2,00	2,33	2,00	1,67
150	2,33	3,00	2,33	2,00
175	2,67	2,33	3,00	2,00
200	3,00	3,33	3,00	4,00
225	3,00	4,00	3,67	4,33
250	3,00	5,00	4,00	4,67
275	3,33	5,33	4,00	5,00
300	3,33	5,67	4,00	5,33
325	3,67	6,33	4,33	6,33
350	4,00	6,33	5,00	6,67
375	4,00	7,00	5,00	6,67
400	4,33	7,33	5,33	7,00
425	5,00	8,00	5,67	7,33
450	5,00	8,33	5,67	7,67
475	5,00	9,33	6,00	8,00
500	5,33	10	6,67	9,00

Berdasarkan hasil uji sitotoksik pada larva udang dari ekstrak etanol diperoleh nilai LC_{50} 416, 87 ppm, pada fraksi alkaloid netral/basa lemah diperoleh nilai LC_{50} 239,88 ppm, pada fraksi alkaloid kuarterner diperoleh nilai LC_{50} 331,13 ppm dan pada ekstrak fraksi alkaloid basa diperoleh nilai LC_{50} 245,47 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak maupun masing-masing fraksi sampel mampu membunuh larva udang sampai 50% populasi. Nilai LC_{50} dari uji mortalitas larva udang diperoleh dengan menggunakan Analisis Probit. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa fraksi alkaloid netral/basa lemah memiliki bioaktivitas paling tinggi terhadap larva udang yang ditunjukkan dengan nilai LC_{50} paling kecil yaitu 239,88 ppm.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi-fraksi alkaloid daun mangga bapang mempunyai potensi toksisitas akut. Hal tersebut berkaitan dengan keempat senyawa yang terdapat yaitu alkaloid, saponin, triterpenoid dan flavonoid yang pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas akut serta dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin dan flavonoid dalam daun mangga bapang yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant)

(Cahyadi, 2009:24).

C. Kesimpulan

Dari hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak etanol dan fraksi alkaloid daun mangga bapang (*Mangifera indica* L.) terbukti memiliki aktivitas sitotoksik yang ditunjukkan dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, yaitu ekstrak etanol 416,87 ppm, fraksi alkaloid netral/basa lemah 239,88 ppm, fraksi alkaloid kuartener 331,13 ppm, fraksi alkaloid basa 245,47 ppm. Dapat disimpulkan aktivitas yang paling kuat ditunjukkan oleh fraksi yang mengandung alkaloid netral/basa lemah daun mangga bapang.

Daftar Pustaka

- Cahyadi, R. (2009). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah. Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran. Semarang.
- Cordell, A.F. (1981). Introduction to Alkaloids, A Biogenetic Approach, A Wiley Interscience Publication. New York: John Wiley and Sons, Inc
- Cronquist, A. (1981). *An Integrated System of Classification of a Flowering Plants*, Columbia University Press, New York
- Hartati, W. M. S., Sofia, M., Bolhuis R. L. H., Nooter, K., Oostrum, R. G., Boersma A. W. M, dan Subagus, W. (2003). Sitotoksitas Rimpang Temu Mangga (*Curcuma Mangga* Val. & V. Zijp.) dan Kunir Putih (*Curcuma Zedoaria* I.) terhadap Beberapa Sel Kanker Manusia (In Vitro) dengan Metoda SRB. *Berkala Ilmu Kedokteran*.
- Pracaya.(2005). *Bertanam Mangga*. Jakarta : PT Penebar Swadaya : 5, 18-20.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., dkk. (1982). Brine Shrimp: Aconvenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45:31-34.
- Purwanti, L.(2016). *Aktivitas Inhibisi α -Amilase Beberapa Ekstrak Tumbuhan Indonesia dan Isolasi Senyawa Aktif Tumbuhan Terpilih*. Tesis. Bandung : Progam studi Magister Farmasi Institut Teknologi Bandung.
- Shah, K. A., Patel, M. B., Patel, R. J., dan Parmar, P. K. (2010): *Mangifera Indica* (Mango), *Pharmacognosy Reviews*, 4 (7), 42–48.
- Siswandono. (1983). *Mekanisme Kerja Obat-obat Anti Kanker*. Jawa timur : Buletin ISFI. Tahun X. No. 1-2. Hal. 3.
- Somkuwar, D.O., dan Vilas, A. K. (2013): Phytochemical Screening of Ethanolic Extracts Of Steam, Leaves, Flower, and Seed Kernel Of *Mangifera Indica* L, *International Journal Of Pharma And Bio Sciences*, 4 (2), 383-389.
- Sukonthasing, Somchai.,dkk. (1992). *Plant Resources of South –East Asia no.2 edibel fruits and nuts*. editors: E.W.M. Verheiji and R.E Coronel. PROSEA : Bogor Indonesia
- Wibowo, S., Bagus S. S. U., Th. Dwi S., dan Syamdidi. (2013). *Artemia untuk Pakan Ikan dan Udang*, Penebar Swadaya Grup, Jakarta.