

BAB 2

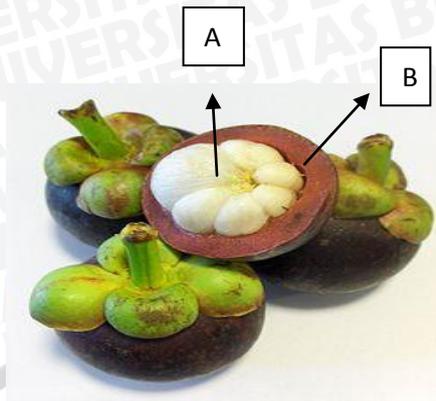
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Manggis (*Garcinia mangostana*)

Manggis adalah tanaman yang sering ditemukan pada daerah tropis. tanaman buah berupa pohon yang banyak tumbuh secara alami pada hutan tropis di kawasan Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia, Thailand, Myanmar, Vietnam dan Kamboja (Hartanto, 2011). Daging manggis berwarna putih dan memiliki tekstur yang halus. Rasa dari daging buah manggis adalah manis dan sedikit ada rasa asam. Buah manggis yang sudah masak memiliki kulit buah yang berwarna ungu kehitaman. Manggis merupakan tanaman yang pertumbuhannya lambat. Tanaman yang mulai dari biji membutuhkan waktu 10 – 15 tahun untuk mulai berbuah dan dapat dipanen setelah berumur 104-110 hari sejak bunga mekar (Hadriyono, 2011).

2.1.1 Taksonomi Buah Manggis (Rukmana, 2003)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (tumbuhan berbiji)
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i> (berbiji tertutup)
Kelas	: <i>Dicotyledonaceae</i> (biji berkeping dua)
Ordo	: <i>Guttiferales</i>
Famili	: <i>Guttiferae</i>
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i>



Gambar 2.1 Manggis dengan (A) adalah pulp dan (B) pericarp buah manggis (Rukmana, 2003)

2.1.2 Morfologi Buah Manggis

Menurut Siti Ropiah (2009), Buah manggis berbentuk bola dengan diameter 3.5–7.0 cm. Buah muda berwarna hijau dan bila telah tua berubah menjadi ungu kehitaman. Tangkai buah tebal dan keras, dengan panjang 1.8–2.0 cm. Kulit buah (perikarp) mempunyai ketebalan 0.8–1.0 cm, berdaging dan bergetah kuning. Buah manggis yang matang mempunyai bobot basah antara 30–140 gram, berbentuk bulat, berwarna ungu kehitaman dengan daging buahnya berwarna putih. Rasa dari buah manggis adalah manis, asam berpadu dengan sedikit sepat dan segar. Proses pematangan buah manggis salah satunya diindikasikan dengan terjadinya perubahan warna kulit buah dari hijau menjadi coklat kemerahan dan pada akhirnya menjadi ungu kehitaman.

Daging buah manggis bersegmen-segmen yang jumlahnya berkisar antara 5-8 segmen. Daging buah manggis berwarna putih dan bertekstur halus (Cahyono, 2011). Tingkat kekerasan manggis sangat mempengaruhi mutu buah, karena semakin keras kulit manggis cenderung mengindikasikan bahwa telah terjadi kerusakan pada daging buah (Achmad, 2005). Dari hasil penelitian tingkat

kekerasan manggis 2,80 kg.s/mm sampai 3,00 kg.s/mm cenderung menunjukkan kondisi daging buah yang mulai mengalami kerusakan (Fransiska *et.al*, 2013).

Biji manggis terdapat di dalam aril buah, tetapi tidak semua aril mempunyai biji. Aril-aril yang mengandung biji cenderung mempunyai ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan yang tanpa biji, meskipun pada buah yang tanpa biji juga ada yang mempunyai ukuran aril yang besar dan biasanya ukuran arilnya relatif seragam. Secara normal biji manggis selalu dalam keadaan lembab dan bila keadaan lembab tersebut berkurang maka biji dapat mati (Fransiska *et.al*, 2013).

Pohon manggis yang ditanam dari biji baru akan berbunga pada umur 10-15 tahun, sedangkan pohon yang ditanam dari bibit sambungan dapat berbunga pada umur 5-7 tahun. Sistem perakarannya kurang baik sehingga sulit untuk tumbuh. Akar tanaman manggis sangat lemah dan mudah rusak. Manggis yang berumur 2 tahun banyak yang tidak mencapai tinggi lebih dari 15 cm (Fransiska, *et. al*, 2013).

2.1.3 Komposisi Bahan Aktif dan Nutrisi Buah Manggis

Kandungan *xanthone* dalam kulit buah manggis kurang lebih 123,97 mg/100ml, sedangkan pada daging buah hanya 4,55 mg/100ml (Suryanti, 2010). Umur simpan *xanthone* dapat mencapai 10 hari jika disimpan di tempat sejuk dan tidak terkena cahaya matahari langsung (Mardawati, 2008). Komposisi bagian buah yang dimakan per 100 g meliputi 79.2 g air; 0.5 g protein; 19.8 g karbohidrat; 0.3 g serat; 11 mg kalsium; 17 mg fosfor; 0.9 mg besi; 14 IU vitamin A, 66 n/mg vitamin C; 0,09 mg vitamin B1 (Thiamin); 0,06 mg vitamin B2

(Riboflavin) dan 0,1 mg vitamin B5 (Niasin) (Paramawati, 2007). Dari manggis, didapatkan substituen isoprenoid dari xanthone, yaitu mangostin, gamma mangostin, gartanin dan garcinone A, B, dan C (Ibid, 2009).

Tabel 2.1 Komposisi Nutrisi per 100 gram Buah Manggis (Paramawati, 2010)

Kandungan	Kadar
Kadar Air (%)	80,2 – 84,9
Energi (kal)	60 -63
Protein (g)	0,5 – 0,6
Lemak (g)	0,1 – 0,6
Karbohidrat(g)	14,3 -15,6
Serat (g)	5 – 5,1
Kalsium (mg)	0,01 – 8
Fosfor (mg)	0,02 -12
Besi (mg)	0,2 – 12
Vitamin B1 (mg)	0,03
Vitamin B2 (mg)	0,03
Vitamin B5/ niasin (mg)	0,03
Vitamin C (mg)	4,2

Tabel 2.2 Kandungan per 100 gram Kulit Buah Manggis Kering (Ningsih, 2011).

Komponen	% Berat Kering
Serat kasar	29.4
Pati	-
Tannin	1.1
Zat yang terlarut dalam isoheksana	4.5
Abu	4.5

Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 95% kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) positif mengandung senyawa golongan flavonoid, saponin, alkaloid, triterpenoid, tanin, dan polifenol (Dewi *et.al*, 2013).

2.1.4 Flavonoid

Flavonoid hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk buah, akar, daun dan kulit luar batang. Manfaat flavonoid antara lain untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antibiotik (Markham, 1988). Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid, triterpenoid, saponin dan flavonoid dalam buah yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali

makanannya. Akibatnya, larva mati kelaparan (Nguyen, 1999). Golongan senyawa flavonoid juga dapat mendenaturasi protein yang menyebabkan aktivitas metabolisme sel bakteri berhenti, sehingga flavonoid juga dapat bertindak sebagai antimikroba.

Senyawa flavonoid adalah senyawa yang mengandung 15 rantai karbon terdiri atas dua inti fenolat yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon. Aglikon flavonoida adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Akan tetapi, bila dibiarkan dalam larutan basa, dan di samping itu terdapat oksigen, banyak yang akan terurai. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksi, atau suatu gula, flavonoida merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoida cukup larut dalam pelarut polar seperti Etanol, Metanol, Butanol, Aseton, Dimetilsulfoksida, Dimetilformamida, air dan lain-lain. Menurut Robinson (1995), flavonoid dapat dikelompokkan berdasarkan keragaman pada rantai karbonnya yaitu :

1. Flavonol

Flavonol paling sering terdapat sebagai glikosida. Aglikon flavonol yang umum yaitu kamferol, kuersetin, dan mirisetin yang berkhasiat sebagai antioksidan dan anti inflamasi. Flavonol lain yang terdapat di alam bebas kebanyakan merupakan variasi struktur sederhana dari flavonol. Larutan flavonol dalam suasana basa dioksidasi oleh udara tetapi tidak begitu cepat.

2. Flavon

Flavon berbeda dengan flavonol dimana pada flavon tidak terdapat gugusan 3-hidroksi. Flavon terdapat juga mempunyai jenis glikosida lebih sedikit daripada jenis glikosida pada flavonol. Flavon yang paling umum dijumpai

adalah apigenin dan luteolin. Luteolin merupakan zat warna. Jenis yang paling umum adalah 7-glukosida dan terdapat juga flavon yang terikat pada gula melalui ikatan karbon. Flavon dianggap sebagai induk dalam nomenklatur kelompok senyawa flavonoid (Robinson, 1995).

3. Isoflavon

Isoflavon merupakan isomer flavon, tetapi jumlahnya sangat sedikit dan sebagai fitoaleksin yaitu senyawa pelindung yang terbentuk di dalam tumbuhan sebagai pertahanan terhadap penyakit. Isoflavon sukar dicirikan karena reaksinya tidak khas dengan pereaksi warna manapun. Beberapa isoflavon (misalnya daidzein) memberikan warna biru muda mengkilat dengan sinar UV bila diuapi amonia, tetapi kebanyakan yang lain tampak sebagai bercak lembayung yang pudar dengan amonia berubah menjadi coklat (Robinson, 1995).

4. Flavanon

Flavanon terdistribusi luas di alam. Flavanon terdapat di dalam kayu, daun dan bunga. Flavanon glikosida merupakan konstituen utama dari tanaman genus prenuis dan buah jeruk; dua glikosida yang paling lazim adalah neringenin dan hesperitin, terdapat dalam buah anggur dan jeruk (Robinson, 1995).

5. Flavanonol

Senyawa ini berkhasiat sebagai antioksidan dan hanya terdapat sedikit sekali jika dibandingkan dengan flavonoid lain. Sebagian besar senyawa ini diabaikan karena konsentrasinya rendah dan tidak berwarna (Robinson, 1995).

6. Katekin

Katekin terdapat pada seluruh dunia tumbuhan, terutama pada tumbuhan berkayu. Senyawa ini mudah diperoleh dalam jumlah besar dari ekstrak kental *Uncaria gambir* dan daun teh kering yang mengandung kira-kira 30% senyawa ini. Katekin berkhasiat sebagai antioksidan (Robinson, 1995).

7. Leukoantosianidin

Leukoantosianidin merupakan senyawa tanpa warna, terutama terdapat pada tumbuhan berkayu. Senyawa ini jarang terdapat sebagai glikosida, contohnya melaksidin, apiferol (Robinson, 1995).

8. Antosianin

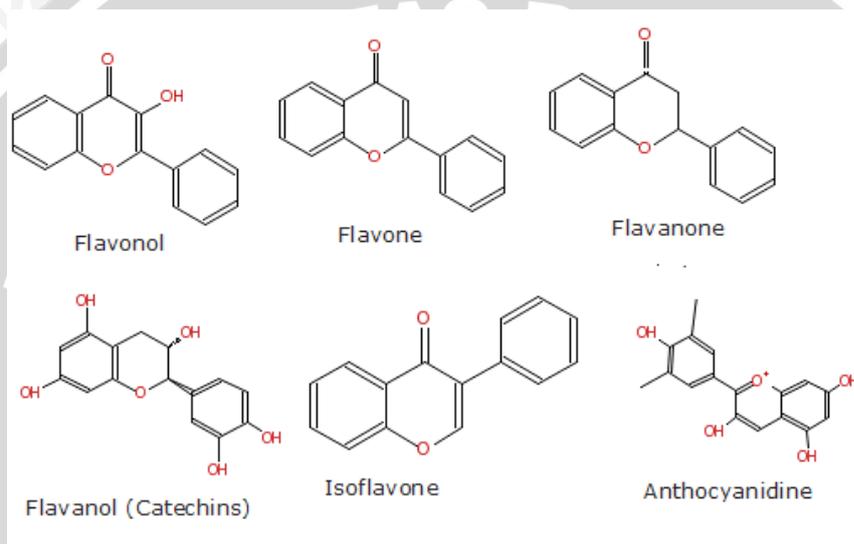
Antosianin merupakan pewarna yang paling penting dan paling tersebar luas dalam tumbuhan. Pigmen yang berwarna kuat dan larut dalam air ini adalah penyebab hampir semua warna merah jambu, merah marak, ungu, dan biru dalam daun, bunga, dan buah pada tumbuhan tinggi. Antosianin mempunyai ciri khas larut dalam air. Secara kimia semua antosianin merupakan turunan suatu struktur aromatik tunggal yaitu sianidin, dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin ini dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil atau dengan metilasi atau glikosilasi (Robinson, 1995).

9. Khalkon

Khalkon adalah pigmen fenol kuning yang berwarna coklat kuat dengan sinar UV bila dikromatografi kertas. Aglikon flavon dapat dibedakan dari glikosidanya, karena hanya pigmen dalam bentuk glikosida yang dapat bergerak pada kromatografi kertas dalam pengembang air (Harborne, 1996).

10. Auron

Auron berupa pigmen kuning emas yang terdapat dalam bunga tertentu dan briofita. Dalam larutan basa senyawa ini berwarna merah mawar dan tampak pada kromatografi kertas berupa bercak kuning, dengan sinar ultraviolet warna kuning kuat berubah menjadi merah jingga bila diberi uap amonia (Robinson, 1995).



Gambar 2.2. Senyawa golongan Flavonoid (Robinson,1995)

2.1.5 Saponin

Saponin adalah suatu glikosida alamiah yang terikat dengan steroid atau triterpena. Saponin mempunyai aktifitas farmakologi yang cukup luas diantaranya meliputi: immunomodulator, anti tumor, anti inflamasi, antivirus, anti jamur, dapat membunuh kerang-kerangan, hipoglikemik, dan efek hypokholesterol. Saponin juga mempunyai sifat bermacam-macam, misalnya: terasa manis, ada yang pahit, dapat berbentuk buih, dapat menstabilkan emulsi, dapat menyebabkan hemolisis. Dalam pemakaiannya saponin bisa dipakai untuk banyak keperluan,

misalnya dipakai untuk membuat minuman beralkohol, dalam industri pakaian, kosmetik, membuat obat-obatan, dan dipakai sebagai obat tradisional. Saponin mempunyai aktivitas biologi yang beragam. Aktivitas biologi ini dipengaruhi oleh kelas Aglycone, gugus polar pada Aglycone, macam karbohidrat yang terikat pada Aglycone, posisi terikatnya pada Aglycone, bahkan orientasi Saponin setelah mengikat membran sel juga ikut mempengaruhinya. Salah satu aktivitas Saponin adalah dapat menyebabkan sel darah merah pecah (lisis). Hal ini disebabkan karena Saponin dapat berikatan dengan kolesterol dari membran sel. Aktivitas ini berkurang jika aglycone dibuang. Aktivitas hemolisis dari saponin tersebut jika berinteraksi dengan sel kuman, kuman akan pecah atau lisis. Oleh karena itu, saponin dapat digunakan sebagai antimikroba (Francis *et.al* 2002).

Ciri-ciri yang lain dari aktivitas hemolisis :

- a. Semakin banyak karbohidrat yang terikat pada Aglycone makin kecil daya hemolisisnya.
- b. Kecepatan hemolisis Saponin Steroid lebih besar dari Saponin Triterpenoid .
- c. Semakin banyak gugus polar pada Aglycone, daya hemolisisnya semakin rendah.
- d. Interaksi antara saponin dan membran sehingga Saponin dapat membentuk porus atau merusak membran perlu diteliti lebih lanjut. Sepertinya beberapa mekanisme dan keadaan ikut terlibat, seperti: pembentukan Saponin kolesterol kompleks, perubahan organisasi atau susunan membran fosfolipid, pemecahan fosfo lipida dan hasil

senyawa yang terbentuk, struktur saponin dan orientasinya dengan sel membran (Francis *et. al*, 2002).

2.1.6 Tanin

Tanin merupakan senyawa lain yang terkandung dalam kulit buah manggis dan memiliki rasa sepat. Tanin terdiri dari berbagai asam folat, serta memiliki aktifitas antioksidan yang mampu menghambat tumor dan menghambat enzim seperti DNA topoisomerase, antidiare, hemostatik (penghenti perdarahan) dan anti hemoroid. Tanin mampu membentuk kompleks kuat dengan protein sehingga dapat menghambat penyerapan protein dalam pencernaan. Dengan kata lain bisa disebut anti-nutrisi. Oleh sebab itu, kadar tanin dalam produk-produk pangan patut diperhatikan dan diformulasikan secara cermat supaya kadarnya aman untuk pencernaan manusia. Senyawa tanin yang dikandung oleh ekstrak kulit manggis diduga mampu mengkerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel bakteri menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau mati (Cowan, 1999; Masduki, 1996; Ajizah, 2004 dalam Maliana, 2013).

2.2 Uji Toksisitas

Uji toksikologi dibagi menjadi tiga kategori yaitu (Trevor *et. al*, 2008) :

1. Uji Toksisitas Akut. Uji ini dirancang untuk menentukan efek toksik suatu senyawa yang akan terjadi dalam masa pemajanan dengan waktu yang

singkat atau pemberiannya dengan takaran tertentu. Uji ini dilakukan dengan cara pemberian konsentrasi tunggal senyawa uji pada hewan uji. Takaran konsentrasi yang dianjurkan paling tidak empat peringkat konsentrasi, berkisar dari konsentrasi terendah yang tidak atau hampir tidak mematikan seluruh hewan uji sampai dengan konsentrasi tertinggi yang dapat mematikan seluruh atau hampir seluruh hewan uji. Biasanya pengamatan dilakukan selama 24 jam, kecuali pada kasus tertentu selama 7-14 hari.

2. Uji Toksisitas Subkronis atau Subakut, dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang diuji tersebut secara berulang-ulang terhadap hewan uji selama kurang dari 3 bulan. Uji ini ditujukan untuk mengungkapkan spectrum efek toksik senyawa uji, serta untuk melihat apakah spectrum toksik itu berkaitan dengan takaran konsentrasi.
3. Uji Toksisitas Kronis, dilakukan dengan memberikan zat kimia secara berulang-ulang pada hewan uji selama lebih dari 3 bulan atau sebagian besar dari hidupnya. Meskipun pada penelitian digunakan waktu lebih pendek, tetapi tetap lebih lambat dibandingkan Uji Toksisitas Akut maupun Uji Toksisitas Sub Akut.

Tabel 2.3 Perbandingan Uji Toksisitas (Harmita et. al/ 2006)

Uji Toksisitas	Hewan	Jenis Kelamin	Lama Penelitian	Cara Pemberian	Indikator
Akut	Roden dan non roden mencit, tikus, marmut, kelinci, anjing	Jantan , betina	24 jam	Oral, sistemik	Kematian
Subkronis	Tikus, anjing	Jantan, betina	1/3 usia hewan	Oral, sistemik	Kematian, kerusakan organ/ sistem organ
Kronis	Tikus, anjing, hewan primata	Jantan, betina	Sebagian besar usia hewan	Oral, sistemik	Kematian, kerusakan organ/ sistem organ

2.3 Zebrafish

Taksonomi *Zebrafish* adalah (Barrows, 2011) :

Kingdom : *Animalia*

Phylum : *Chordata*

Class : *Actinopterygii*

Order : *Cypriniformes*

Family : *Cyprinidae*

Genus : *Danio*

Species : *Danio rerio*



Gambar 2.3 Zebrafish dewasa

(www.zfin.org)

Zebrafish berasal dari daerah Himalaya dan merupakan ikan air tawar. Menurut OECD (2013), prinsip penelitian yang dilakukan pada embrio *zebrafish* adalah dengan cara memberikan paparan dengan berbagai konsentrasi uji pada embrio *zebrafish*. Penelitian dilakukan segera setelah pembuahan dan dilanjutkan sampai 48 jam. Peneliti menggunakan *24-well microtiter plates* untuk berbagai zat uji dengan minimal menggunakan lima konsentrasi zat dan minimal sepuluh ekor embrio *zebrafish* per konsentrasi. Penelitian ini membutuhkan pengulangan dua sampai tiga kali.

Zebrafish dewasa berusia antara 4 – 12 bulan dapat digunakan sebagai produsen telur. Ikan yang digunakan harus sehat dan bebas dari infeksi. Ikan betina dan jantan diletakkan dalam satu akuarium dengan rasio 1:2. Proses kawin dan pembuahan terjadi selama 30 menit setelah lampu akuarium dinyalakan. Untuk menghindari ikan dewasa memangsa telur, tempat telur perlu ditutup dengan *stainless steel* berlubang. *Zebrafish* betina dewasa dapat menghasilkan 50 – 80 telur per hari (OECD, 2013).

Pengamatan yang dapat dilakukan pada embrio *Zebrafish* meliputi koagulasi embrio, gerakan ekor, denyut jantung, dan *somite formation*. Koagulasi embrio dapat ditentukan dengan adanya warna putih susu dan tampak kehitaman saat embrio diamati dengan mikroskop. *Somite formation* dapat dilihat dengan adanya kontraksi spontan dari embrio *Zebrafish* (*side-to-side contractions*). Denyut jantung embrio *Zebrafish* dapat diamati setelah 48 jam masa fertilisasi.

Uji Toksisitas akut pada *Zebrafish* memiliki beberapa kriteria yang harus dipenuhi agar hasil yang didapatkan dari penelitian tersebut valid, antara lain :

- a. Tingkat kesuburan induk (*fecundity*) harus $\geq 70\%$.
- b. Saturasi oksigen pada *test plate* harus $\geq 80\%$.
- c. Suhu air harus dijaga 26 ± 1 °C di semua *test plate* selama penelitian.
- d. *Survival rate* dari kontrol harus $\geq 90\%$ sampai berakhirnya paparan.
- e. Kematian dari kontrol positif harus $\geq 30\%$ pada akhir penelitian (96 hpf).
- f. Semua larutan yang digunakan harus diganti setiap hari.

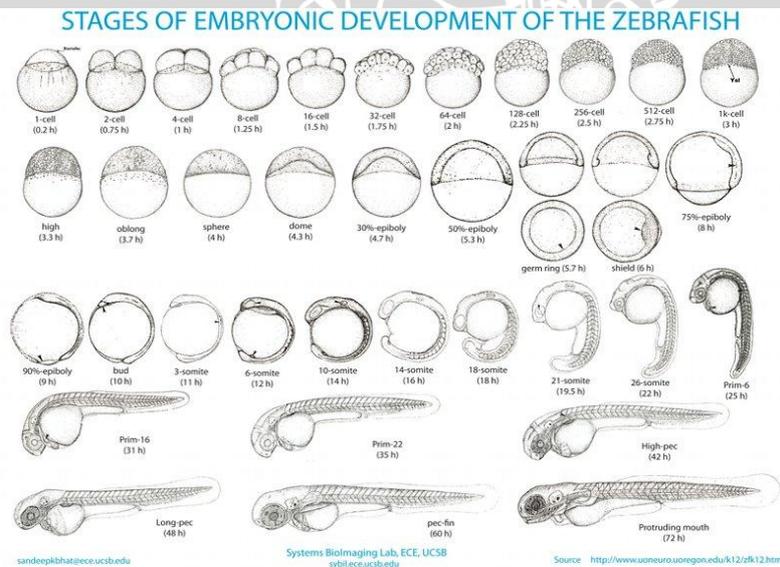
Jika salah satu kriteria tersebut tidak dipenuhi, penelitian harus diulang (Strecker, 2013).

2.3.1 Perkembangan Zebrafish

Periode zigot pada zebrafish terjadi pada saat telur baru dibuahi sampai pembelahan pertama terjadi, yaitu sekitar 40 menit setelah pembuahan. Setelah itu embrio zebrafish mengalami periode pembelahan menjadi blastula sampai 4 2/3 jam setelah fertilisasi. Pada saat satu jam setelah fertilisasi, embrio zebrafish mengalami pembelahan menjadi empat sel. Kemudian, dari periode blastula, embrio zebrafish berubah bentuk menjadi gastrula pada 5 ¼ jam setelah

fertilisasi sampai 10 jam setelah fertilisasi. Pada periode gastrula, blastoderm menjadi tipis dan blastopore hampir menutup. Dari bentuk gastrula, embrio zebrafish mengalami periode segmentasi, dimana somite mulai terbentuk dan mengalami perkembangan. Periode segmentasi pada embrio zebrafish akan berlangsung pada 10.5 hpf sampai 22 hpf. Pada 20 hpf akan mulai terlihat kedutan dari otot embrio dan ekor embrio akan mulai tampak.

Setelah mengalami periode segmentasi, embrio zebrafish mengalami periode pharingula pada 24 hpf sampai 36 hpf. Pada 24hpf, embrio zebrafish dapat melakukan gerakan spontan, ekor embrio akan mulai terlepas dari yolk dan terjadi pigmentasi awal. Pada 30 hpf akan terjadi pigmentasi retina, gerakan spontan akan berkurang, dan sirkulasi dari lengkung aorta embrio mulai tampak. Saat 36hpf, jantung mulai berdetak, ekor mengalami pigmentasi, sirkulasi menjadi kuat, lengkung aorta tunggal menjadi berpasangan. Setelah itu, embrio zebrafish mulai menetas pada 72 hpf (Kimmel *et. al*, 1995).



Gambar 2.4 Perkembangan embrio zebrafish
(<http://www.sandeepkhat.info/img/ZebrafishStages.jpg>)