

Uji Bioaktivitas Senyawa Glikosida dari Biji Keben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz)

Bustanussalam^{1*)} dan Partomuan Simanjuntak^{1,2)}

¹⁾Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jalan Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911

²⁾Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta 12640

Diterima 08-04-2009

Disetujui 10-08-2009

ABSTRACT

The fruits or seeds of Keben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz) were used traditionally for fish poisons, to curve stomach and headache. The aim of this research was to isolate and identify bioactive compound of n-butanol fraction of active compound against *Artemia salina* Leach larvae. Isolation and purification of n-butanol fraction were carried out by column chromatography (SiO₂: CHCl₃-MeOH) and high pressure liquid chromatography (RP, MeOH). The result of purification was then tested using BSLT method. The test showed that, BABU-2.4 had the highest activity with LC₅₀ value was 30.19 ppm. BABU-2.4 was identified with FT-IR spectrophotometer and NMR (proton and carbon) spectrophotometer as derivative of glycoside.

Keywords: *Barringtonia asiatica* L. Kurz, glycoside, keben, toxicity

PENDAHULUAN

Keben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz) termasuk dalam suku *Lecythidaceae*. Tumbuhan ini banyak dijumpai di sekitar pantai, sepanjang sungai atau di hutan mangrove pada ketinggian 350 m di atas permukaan laut. Dibeberapa daerah, tumbuhan ini sering disebut sebagai tumbuhan beracun (*poisonous plant*), karena di beberapa daerah buahnya digunakan sebagai racun ikan. Misalnya, masyarakat Papua menggunakan biji keben untuk menangkap ikan. Bijinya diparut kemudian disebar dipermukaan selokan yang dalamnya mencapai 1 meter sehingga ikan akan pingsan dan mudah ditangkap dipermukaan air (Lemmes & Bunyaphatsara 2003; Samah 1988)

Pemanfaatan tumbuhan ini berbeda-beda di setiap negara dan daerah. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah biji, buah dan daunnya. Di Filipina daunnya digunakan sebagai obat untuk sakit perut. Masyarakat Indonesia dan Indo Cina menggunakan buah atau bijinya sebagai racun ikan. Sedangkan suku Aborigin di Australia menggunakan tumbuhan ini sebagai racun ikan dan sebagai obat sakit kepala (Lemmes & Bunyaphatsara 2003; Samah 1988; Duryatmo 2006)

Keben mengandung senyawa saponin, terpen, alkaloid, triterpenoid, fenolik dan tanin (Duryatmo 2006). Diduga sebagian besar khasiat obat dalam biji keben

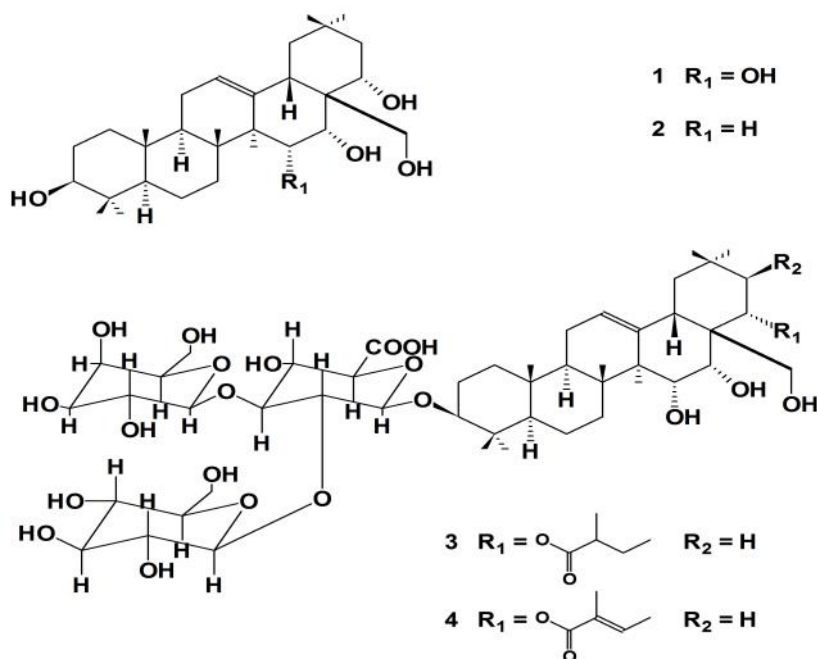
berasal dari saponin dalam tanaman tersebut. Herlt, (2002), menunjukkan bahwa biji keben mengandung senyawa saponin yang berkhasiat sebagai racun ikan. Herlt juga telah mengisolasi dan menentukan struktur kimianya sebagai 3,15,16,22,28-pentahydroxyolean-12-ene(1);3,16,22,28-pentahydroxyolean-12-ene(2);3-O-[-D-galactopyranosyl(1→3)-D-glucopyranosyl(1→2)]-D-glucuronopyranosyloxy-22-O-(2-methylbutyroyoxy)-15,16,28-trihydroxy-(3,15,16,22)-olean-12-ene(3);3-O-[-D-galactopyranosyl(1→3)-D-glucopyranosyl(1→2)]-D-glucuronopyranosyloxy-22-O-[2(E)-methyl-2-butenyloxy]-15,16,28-trihydroxy-(3,15,16,22)-olean-12-ene(4) (Herlt *et al*, 2002) (Gambar 1).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa aktif dari fraksi *n*-butanol berdasarkan hasil pengujian toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach (Meyer *et al.*, 1982). Diharapkan hasil yang diperoleh dapat digunakan sebagai landasan dalam pemanfaatan keben sebagai obat alami yang memberikan nilai ekonomi tinggi.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biofarmaka, Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Cibinong. Bahan dan Alat Penelitian. Biji keben diperoleh dari Papua dan telah diidentifikasi

*Telp: (021) 8754587, Fax. 8754588
Email: boest77@yahoo.com



Gambar 1. Struktur senyawa kimia biji keben hasil isolasi Herlt *et al.*, 2002

di Herbarium Bogoriensis (Cibinong) sebagai *Barringtonia asiatica* (L.) Kurz. Pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat, *n*-butanol, kloroform, amoniak, natrium hidroksida. Sedangkan, alat yang kemudian dipartisi kembali dengan *n*-butanol sebanyak 3 kali, dan hasilnya diuapkan dengan penguap berpusing hingga diperoleh ekstrak kasar. Terhadap ketiga ekstrak kemudian dilakukan uji penapisan fitokimia. Untuk menentukan pelarut dalam kromatografi kolom, ekstrak *n*-butanol dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan sistem pelarut kloroform-metanol-air (5 : 5 : 1), kloroform-metanol (2 : 1) dan kloroform-metanol (1 : 1).

Analisis Penapisan Fitokimia. Penapisan fitokimia untuk semua ekstrak dilakukan berdasarkan metode Franswort 1996, dimana ekstrak yang akan dianalisis direaksikan dengan pereaksi tertentu dan diamati perubahan warna yang terjadi.

Pengujian Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pengujian toksisitas dari ekstrak kasar hingga senyawa murni dilakukan berdasarkan metode BSLT (Meyer *et al.*, 1982). Untuk mendapatkan nilai *Lethal Concentration* (LC), berbagai konsentrasi ekstrak diuji toksisitas terhadap larva, dan setelah 24 jam jumlah larva yang mati dihitung. Semakin kecil nilai LC_{50} , maka semakin besar toksisitasnya.

Fraksinasi ekstrak *n*-butanol dengan Kromatografi Kolom. Fraksi ekstrak *n*-butanol dimurnikan (fraksinasi pertama) dengan kromatografi kolom dengan

menggunakan sistem pelarut kloroform-metanol secara gradien dari 5 : 1~1 : 1. Hasil fraksinasi kemudian diuji dengan BSLT untuk melihat fraksi yang aktif. Fraksi yang paling aktif dimurnikan kembali (fraksinasi kedua) dengan kromatografi kolom (SiO_2 , kloroform-metanol = 5 : 1~1 : 1). Kemudian fraksi-fraksi tersebut diuji kembali dengan BSLT untuk melihat fraksi yang paling aktif. Fraksi yang paling aktif selanjutnya dimurnikan dengan KCKT.

Pemurnian dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Fraksi aktif hasil fraksinasi kedua dimurnikan dengan KCKT dengan kondisi analisis sebagai berikut: fase gerak metanol p.a, fase diam Capcell Pack C-18, kecepatan alir 1,0 mL/menit, panjang gelombang 254 nm dan volume yang diinjeksikan 20 μ L.

Identifikasi Senyawa Murni. Struktur kimia senyawa murni yang diperoleh ditentukan dengan cara mengambil data spektra spektroskopi infra-merah, untuk mengetahui gugus-gugus fungsi, dan resonansi magnet inti (proton dan karbon), untuk mengetahui jumlah dan karakteristik dari proton dan karbonnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan partisi. Dari hasil ekstraksi dan partisi 200 gram biji keben diperoleh bobot ekstrak kasar metanol sebanyak 103,41 gram (51,70%), etil asetat sebanyak 23,23 gram (11,62%), *n*-butanol sebanyak 17,51 gram (8,76%) dan air sebanyak 3,5

gram (1,75%). Rendemen hasil ekstraksi dan partisi biji keben dapat dilihat pada Tabel 1.

Penapisan Fitokimia. Hasil penapisan fitokimia masing-masing ekstrak ditampilkan pada Tabel 2. Dari tabel tersebut terlihat bahwa ekstrak metanol, etilasetat, *n*-butanol dan air mengandung senyawa triterpenoid; ekstrak metanol, *n*-butanol dan air mengandung senyawa flavonoid dan kuinon; ekstrak metanol dan air mengandung senyawa saponin dan tannin dan ekstrak air mengandung senyawa alkaloid.

Uji Aktivitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach dapat dilihat pada Tabel 3, 4 dan 5. Dari Tabel 3 terlihat bahwa ekstrak etilasetat dan ekstrak *n*-butanol memiliki nilai LC₅₀ lebih rendah dari ekstrak air. Ini berarti kedua ekstrak memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak air. Atas dasar itu, maka untuk penelitian selanjutnya digunakan ekstrak *n*-butanol.

Tabel 1. Bobot dan rendemen masing-masing ekstrak

No	Ekstrak	Bobot (gram)	Rendemen (%)
1.	Metanol	103,41	51,70
2.	Etil asetat	23,23	11,62
3.	<i>n</i> -butanol	17,51	8,76
4.	Air	3,5	1,75

Dari hasil fraksinasi ekstrak *n*-butanol diperoleh 5 fraksi (BABU-1~BABU-5), fraksi BABU-2 memiliki nilai LC₅₀ lebih rendah dari fraksi yang lain. Ini berarti, fraksi tersebut memiliki aktivitas yang lebih aktif dibandingkan fraksi lainnya (Tabel 4). Atas dasar hasil ini, fraksi BABU-2 digunakan untuk fraksinasi selanjutnya.

Dari hasil fraksinasi BABU-2 diperoleh 5 fraksi (BABU-2.1~BABU-2.5). Dari Tabel 5 terlihat bahwa BABU-2.4 memiliki nilai LC₅₀ yang lebih rendah dari fraksi lainnya. Hal ini dapat diartikan bahwa aktivitas fraksi ini paling aktif dibandingkan fraksi-fraksi lainnya.

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia ekstrak biji keben (*Barringtonia asiatica* L.Kurz)

No	Penapisan Fitokimia	Ekstrak metanol	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak <i>n</i> -butanol	Ekstrak air
1.	Alkaloid	-	-	-	+
2.	Flavonoid	+	-	+	+
3.	Saponin	+	-	-	+
4.	Tanin	+	-	-	+
5.	Steroid	-	-	-	-
6.	Triterpenoid	+	+	+	+
7.	Kuinon	+	-	+	+
8.	Minyak atsiri	-	-	-	-
9.	Kumarin	-	-	-	-

Keterangan = + : memberikan hasil positif;
- : memberikan hasil negatif

Tabel 3. Hasil uji toksisitas beberapa ekstrak

Sampel	Dosis(D) (bpj)	Log D	Mati	Hidup	M/T	% Kematian	Probit	LC ₅₀ (bpj)
Ekstrak etil asetat	1000	3	30	-	30/30	100,00	8,09	31,69
	100	2	16	14	16/30	53,33	5,08	
	10	1	10	20	10/30	33,33	4,56	
Ekstrak <i>n</i> -butanol	1000	3	30	-	30/30	100,00	8,09	32,21
	100	2	18	12	18/30	60,00	5,25	
	10	1	8	22	8/30	26,67	4,39	
Ekstrak air	1000	3	30	-	30/30	100,00	8,09	39,81
	100	2	14	16	14/30	46,66	4,92	
	10	1	7	23	7/30	23,33	4,26	

Keterangan : bpj = bagian per sejuta, M/T = mati/total, Probit = analisis statistika

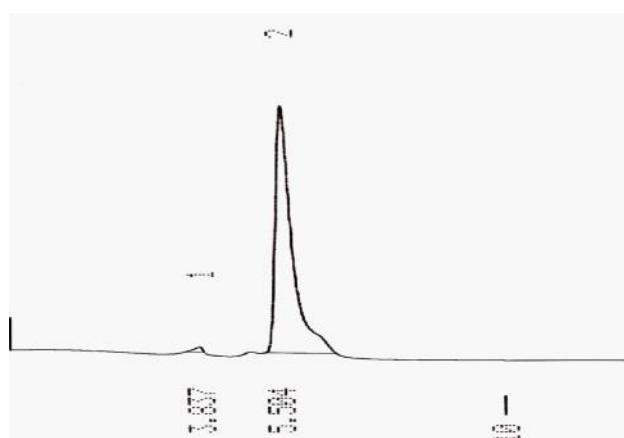
Tabel 4. Hasil uji toksisitas dari hasil fraksinasi pertama

Sampel	Dosis(D) (bpj)	Log D	Mati	Hidup	M/T	% Kematian	Probit	LC ₅₀ (bpj)
BABU-1	1000	3	25	5	25/30	83,33	5,95	70,14
	100	2	17	13	17/30	56,67	5,18	
	10	1	7	23	7/30	23,33	4,25	
BABU-2	1000	3	26	4	26/30	86,67	6,13	47,97
	100	2	17	13	17/30	56,67	5,18	
	10	1	9	21	9/30	30,00	4,48	
BABU-3	1000	3	24	6	24/30	80,00	5,84	93,32
	100	2	16	14	16/30	53,33	5,08	
	10	1	6	24	6/30	20,00	4,16	
BABU-4	1000	3	26	4	26/30	86,67	6,13	95,06
	100	2	11	19	11/30	36,67	4,67	
	10	1	7	23	7/30	23,33	4,26	
BABU-5	1000	3	25	5	25/30	83,33	5,95	105,9
	100	2	13	17	13/30	43,33	4,82	
	10	1	6	24	6/30	20,00	4,16	

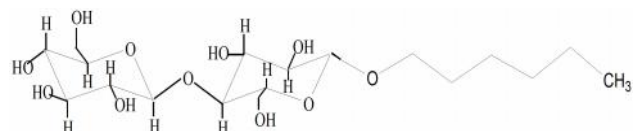
Keterangan = BABU : *Barringtonia asiatica n*-butanol

Tabel 5. Hasil uji toksisitas dari hasil fraksinasi kedua

Sampel	Dosis(D) (bpj)	Log D	Mati	Hidup	M/T	% Kematian	Probit	LC ₅₀ (bpj)
BABU-2.1	1000	3	30	-	30/30	100	8,09	35,48
	100	2	15	15	15/30	50,00	5,00	
	10	1	8	22	8/30	26,67	4,39	
BABU-2.2	1000	3	30	-	30/30	100	8,09	33,11
	100	2	17	13	17/30	56,67	5,18	
	10	1	8	22	8/30	26,67	4,39	
BABU-2.3	1000	3	30	-	30/30	100	8,09	30,90
	100	2	17	13	17/30	56,67	5,18	
	10	1	9	23	9/30	30,00	4,48	
BABU-2.4	1000	3	30	-	30/30	100	8,09	30,19
	100	2	16	14	16/30	53,33	5,08	
	10	1	10	20	10/30	33,33	4,56	
BABU-2.5	1000	3	30	-	30/30	100	8,09	36,89
	100	2	14	16	14/30	46,67	4,92	
	10	1	8	22	8/30	26,67	4,39	



Gambar 2. Kromatogram KCKT fraksi BABU-2.4



Gambar 3. Perkiraan struktur kimia dari fraksi BABU-2.4

Dari hasil pengujian toksisitas diperoleh bahwa semua ekstrak (etilasetat, *n*-butanol, dan air) dan hasil fraksinasi (BABU-1 ~ BABU-5) dan (BABU-2.1~ BABU-2.5) bersifat toksik karena memiliki LC₅₀ kurang dari 1000 µg/ml (Meyer *et al.*, 1982).

Pemurnian Fraksi BABU-2.4 dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Hasil analisis KCKT fraksi BABU-2.4 menunjukkan bahwa fraksi tersebut merupakan senyawa murni yang mempunyai RT 5,5 menit. Senyawa tersebut berbentuk kristal amorf berwarna hijau muda. Kromatogram hasil kromatografi cair kinerja tinggi fraksi BABU-2.4 dapat dilihat pada Gambar 2.

Identifikasi senyawa A dengan Infra Merah (IR). Hasil analisis fraksi BABU-2.4 dengan Spektrofotometer FT-IR menunjukkan bahwa terdapat gugus C-H alkana pada bilangan gelombang 2873,74 cm⁻¹ dan 2933,53 cm⁻¹; C-O pada bilangan gelombang

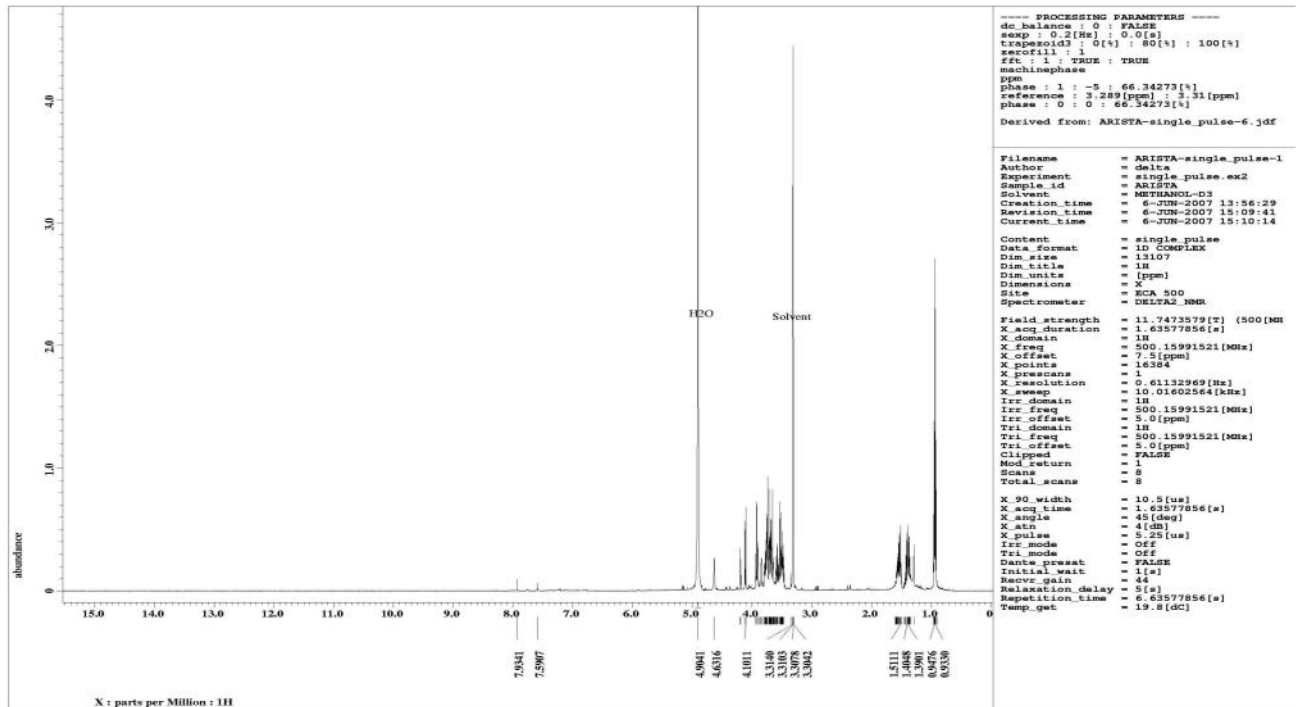
Tabel 6. Pergeseran kimia karbon senyawa isolat BABU-2.4 dan jenis gula (Herlt, 2002; Hostettmann & Marston, 1997)

No	RMI karbon ¹⁾ Senyawa isolat BABU 2.4	RMI karbon ²⁾ Senyawa triterpenglikosida	RMI karbon ³⁾ Senyawa metilglikopiranosida
	Aglikon	Aglikon	
1	14,45 (q)	Triterpen	
2	20,47 (t)		
3	20,62 (t)		
4	33,42 (t)		
5	33,56 (t)		
6	61,73 (d)		
	Gula	Glukosa	
1'	101,71	103,8	103,7
2'	71,64	71,8	70,3
3'	83,45	83,6	75,5
4'	70,63	72,0	73,7
5'	78,44	77,7	75,5
6'	63,52	63,1	61,7
		Galaktosa	
1''	105,23	105,2	104,1
2''	62,27	62,9	69,1
3''	71,02	72,1	73,3
4''	65,11	64,9	71,2
5''	77,36	77,2	75,3
6''	61,98	61,9	61,4

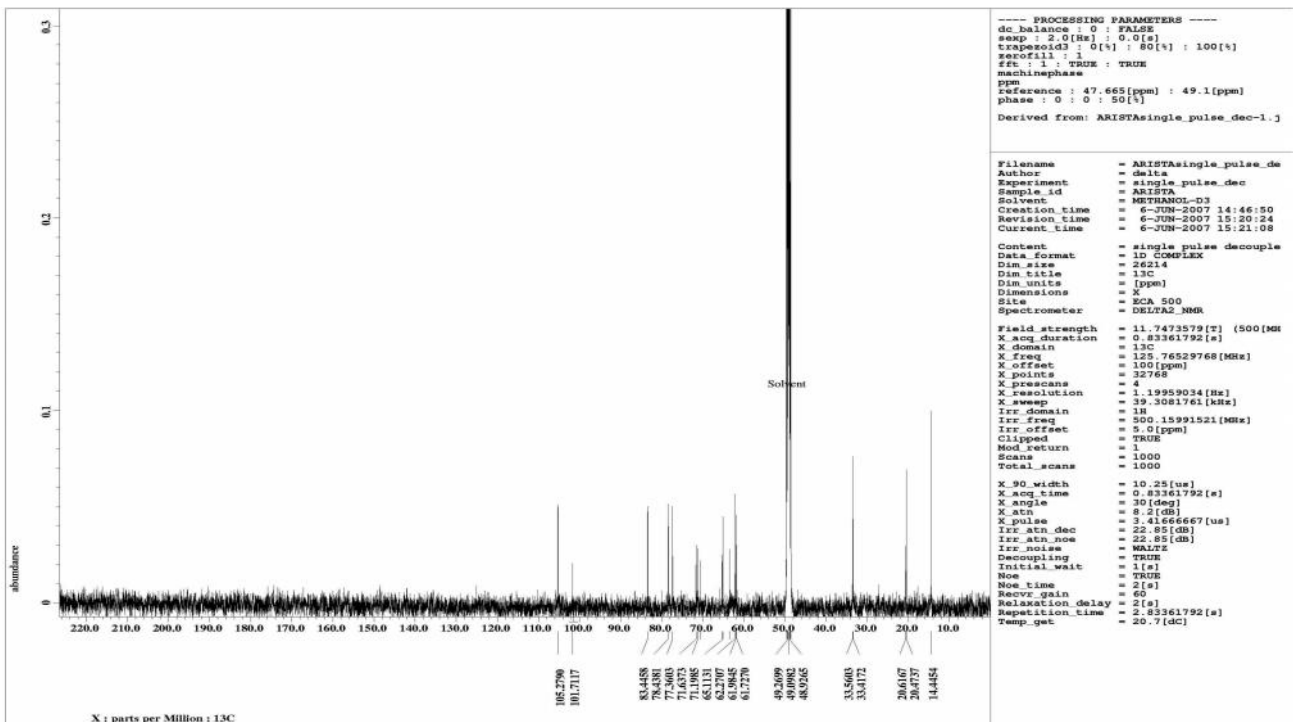
¹⁾pelarut D₂O ²⁾pelarut CD₃OD ³⁾pelarut D₂O

1054,03 cm⁻¹; 1162,03 cm⁻¹ dan 1257,5 cm⁻¹; dan O-H pada bilangan gelombang 3348,19 cm⁻¹. Dari data spektra infra merah ini memberikan informasi bahwa struktur kimia mempunyai gugus hidroksil dan C-H alkana.

Spektroskopi Resonansi Magnet Inti (RMI) proton dan karbon. Penyidikan spektra untuk senyawa isolat dari fraksi BABU-2.4 dengan RMI proton menunjukkan bahwa δH 0,93~1,51 ppm memberikan informasi adanya -CH₃; -CH₂- yang berikatan tunggal, sedangkan δH 3,31~4,63 ppm menunjukkan adanya -CH-OH dan -CH₂OH (Gambar 3). Adanya proton anomerik terdapat pada δH 4,18 (d) dan 4,11 (d) yang



Gambar 4. Spektra RMI proton untuk senyawa isolat BABU-2.4



Gambar 5. Spektra RMI karbon untuk senyawa isolat BABU-2.4

menunjukkan bahwa senyawa isolat mempunyai gugus karbon (δC) dari senyawa karbohidrat (sakarida) diperoleh bahwa gula yang terdapat pada senyawa isolat adalah glukosa dan galaktosa. Beberapa perbedaan pergeseran kimia karbon disakarida pada senyawa isolat adalah dikarenakan beda senyawa aglikon yang mengikat gula yaitu triterpen (Herlt, 2002) dan bentuk metil monosakarida (metilglukosa dan metil galaktosa) (Hostettmann & Marston, 1997)

menunjukkan bahwa senyawa isolat mempunyai gugus karbon (δC) dari senyawa karbohidrat (sakarida) diperoleh bahwa gula yang terdapat pada senyawa isolat adalah glukosa dan galaktosa. Beberapa perbedaan pergeseran kimia karbon disakarida pada senyawa isolat adalah dikarenakan beda senyawa aglikon yang mengikat gula yaitu triterpen (Herlt, 2002) dan bentuk metil monosakarida (metilglukosa dan metil galaktosa) (Hostettmann & Marston, 1997)

Sehingga berdasarkan interpretasi data spektra IR (gugus OH), dan RMI proton dan karbon, maka struktur kimia yang diisolasi dari fraksi *n*-butanol Keben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz) diperkirakan senyawa glikosida yang mempunyai asam lemak sebagai aglikonnya.

KESIMPULAN

Hasil isolasi senyawa kimia dari fraksi *n*-butanol biji keben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz) adalah suatu senyawa turunan glikosida yang mempunyai daya toksisitas sebesar $LC_{50} = 30,19$ bpj.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Arista Fendy Saputro atas asistensinya dan PT. Akar Kehidupan Papua atas kerjasamanya dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Duryatmo, S.** 2006. Obat Papua bermula dari pantai Basege. *Majalah Trubus* **34**: 12.
- Franswort, N. R.** 1996. Biological and Phytochemical Screenings of Plant. *J. Pharm. Sci.* **55**: 225-265.
- Harborne, J. B.** 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: ITB Press.
- Herlt, A.J., Mander, L.N., Pongoh, E.J., Rumampuk, R.J., & Tarigan, P.** 2002. Two mayor saponins from seeds of *Barringtonia asiatica*: putative antifeedants toward *Epilachna* sp. larvae. *J. Nat. Prod.* **65**: 115-120
- Hostettmann K. & Marston, A.** 1997. Saponis, Chemistry and Pharmacology of Natural Products. Cambridge: Cambridge University Press.
- Lemmes, R.H.M.J. & Bunyapraphatsara, N.** 2003. Medicinal and poisonous plants. Plant resources of south-east asia, No.12. Bogor: *Prosea Foundation*.
- Meyer, B. N., R. N. Ferrign, J. E. Putnam, L. B. Jacobson, D. E. Nicholas, & J. L. McLaughlin.** 1982. Brine Shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* **45**: 31-34.
- Plant profile *Barringtonia asiatica* L. Kurz.** http://www.plant.usda.gov/java/profile_30 September 2006
- Samah, A.** 1988. Study on *Barringtonia asiatica* Kurz. *Buletin Penelitian Kesehatan* **16**(3): 22.
- Tanaman Khas di Indonesia.** <http://www.e-smartschool.com/PNU/005/PNU0050008.asp>. 30 November 2006.
- Tan, R. See Poison Tree.** http://www.naturia.per.sg/buloh/plants/sea_poison.htm. 30 November 2006.