2-(β-D-GLUKOPIRANOSILOKSI) 5-HIDROKSI ASAM BENZEN ASETAT DARI BIJI TUMBUHAN BINGKEK (*Entada phaseoloides* Merr)

Jismi Mubarrak

Program Studi Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Pasir Pengaraian

ABSTRACT

Isolation of secondary metabolite compound from seeds kernel of Bingkek plant (*Entada phaseoloides* Merr) by column chromatographi was carried out. Extraction by maseration method with methanol, morevert the extract was partitioned using n-hexane and ethyl acetate.

The ethyl acetate extract was then purified using column chromatography. The pure compound was white amorf (weight 78 mg) which was decomposition at 202^0C. The pure the was analyzed by Ultra Violet (UV), Infra Red (IR), and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscophy. Spectroscopic data were compared with literature showed that Benzene acetic acid 2-(β-D-glukopyranosiloxy)-5-hidroxy compound.

Keyword: *Entada phaseolides* Merr, (Benzene acetic acid 2-(β-D-glukopyranosiloxy)-5-hidroxy, isolation.

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia sudah biasa menggunakan obat-obatan tradisional yang umumnya berasal dari tumbuhan untuk mencegah dari serangan penyakit atau mengobati penyakit. Aplikasi dari obat-obatan ini bisa dengan cara meminum ekstrak air dari tanaman tersebut atau meletakkan bagian yang sudah ditumbuk halus pada daerah di tubuh yang sakit. Kurangnya infor-masi ilmiah mengenai komponen-kompenen kimia yang terdapat dalam tanaman untuk obat tradisional mengakibatkan nilai ekonomi dari tanaman-tanaman ini sangat rendah. Selain itu penggunaan nya yang biasa menggunakan dosis sembarang bisa mengakibatkan efek yang tidak diinginkan. (Utami dan Robara, 2008).

Pencarian sumber obat dari alam amat memungkinkan di Indonesia yang kaya akan keanekaragaman tumbuhan. Pemakaian bahan yang bersumber dari alam ini memiliki resiko efek samping yang lebih ringan serta tingkat keamanan yang lebih tinggi diban-dingkan dengan obat sintetis yang berasal dari bahan kimia murni. Beberapa dari tumbuhan tersebut mempunyai potensi untuk dikembang-kan menjadi sediaan fitofarmaka dan sebagai sumber obat yang baru.

Tumbuhan bingkek merupakan salah satu tumbuhan yang terdapat di Indonesia. Tumbuhan ini terdistribusi dibeberapa daerah, seperti Bali, Jawa, Sumatera, juga terdapat di Filipina, Jepang, India hingga ke Afrika. Tumbuhan ini memiliki banyak khasiat. Secara tradisional, akarnya digunakan sebagai obat murus darah dan panas perut. banyaknya busa

yang dihasilkan bisa digunakan sebagai pencuci pakaian, pembersih rambut dan untuk mengobati penyakit pityriasis, yaitu kudis yang terdapat pada bagian yang berambut terutama kepala. Biji tumbuhan ini digunakan juga sebagai pencuci rambut, penyakit lambung dan sebagai obat untuk memulihkan kondisi wanita yang baru melahirkan. Bagi masyarakat Bali bijinya dijadikan sebagai makanan yakni dengan memanggang kulit buahnya hingga pecah. Selanjutnya biji tersebut direndam dalam air mengalir salama 24 jam dan direbus kembali kemudian baru digunakan. (Heyne, 1987).

Di negara Filipina, biji tumbuhan ini digunakan sebagai bahan pencuci rambut, obat rematik. Sedangkan bagi masyarakat India biji tumbuhan ini digunakan sebagai racun ikan (Barua, 1988). Masyarakat di bagian propinsi Yunan, China menggunakan tumbuhan ini sebagai obat sakit perut dan hernia. (Hui, 2010). Protein yang dikandung tumbuhan ini dilaporkan sebagai anti-HIV. (Dong, *et. al*., 2009).

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada peneliian ini adalah pelarut teknis untuk isolasi yaitu: metanol, n-heksan, etil asetat, natrium hidroksida, iodium, kloroform, asam sulfat, asam asetat, pereaksi Lieberman-Burchard (asam sulfat pekat + anhidrida asetat), kertas saring *whatman* cat No. 1001 (125 mm), silika gel 60 (70-230) mesh utuk kolom kromatografi dan plat kroma-tografi lapis tipis silika gel F-254.

Peralatan

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain adalah sebagai berikut : spektrofotometer UV-Visible merk Hitachi U-2001, spektrofotometer IR merk Shimadzu type IR Prestige-21, Spektrofotometer NMR merk JEOL type JNM-ECA 600 MHz (^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR, DEPT dan HMBC) lampu ultraviolet 365 dan 254 mm, seperangkat alat destilasi. Rotary evaporator, kolom kromato-grafi, oven vakum, hot plate, fisher jhon melting point apparatus, dan peralatan lainnya yang sesuai prosedur kerja.

Material Tumbuhan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah biji tumbuhan bingkek yang didapat dari hutan kecil Danau Pitir Kecamatan Kepenuhan Kabupaten Rokan Hulu, Provinsi Riau sebanyak 5 kg. Pengidentifikasian tumbuhan dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas (ANDA).

Cara Kerja

Biji tumbuhan bingkek dikupas dan dikeluarkan isinya, kemudian isi biji tersebut dikering anginkan dan dihaluskan. Sebanyak 2.6 kg dimaserasi dengan 5 L metanol selama 3 hari kemudian hasil maserasi disaring dan maserasi diulangi hingga lima kali.

Setiap maserat yang diperoleh diuapkan menggunakan rotary evapo-rator pada suhu 40-45^{0}C, kemudian ditimbang dan ekstrak kental yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin sampai penggunaan selanjutnya.

Ekstrak metanol yang telah dikum-pulkan dan ditimbang berat-nya, selanjutnya difraksinasi menggu-nakan pelarut n-heksan dan etil asetat.

Pada fraksinasi n-heksan, 400 gr ekstrak metanol dimasukkan kedalam corong pisah dan difraksinasi dengan 300 ml n-heksan, kemudian dikocok dan dibiar-kan selama 2 jam hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan atas (n-heksan) berwana bening dan lapisan bawah (metanol) berwarna coklat muda. Fraksinasi diulangi hingga 5 kali, sehingga total volume n-heksan terpa-kai sebanyak 1,5 L. Fraksinasi selanjut-nya dilakukan dengan pelarut etil asetat dengan cara yang sama dengan fraksinasi diatas. Setelah dibiarkan selama 4 jam lapisan etil asetat dan metanol dipisahkan, lapisan etil asetat (atas) berwarna putih keruh. Sedangkan lapisan metanol berwarna coklat muda. Selanjutnya hasil fraksinasi ini diuap-kan pelarutnya dan disimpan dalam lemari pendingin selama seminggu hingga didapat bubuk putih sebanyak 0,618 g dari fraksi etil asetat.

Sebanyak 0,618 g bubuk putih hasil fraksinasi etil asetat dimurnikan menggunakan kromatografi kolom. Bubuk diberi silica gel diaduk hingga kering dan merata. kemudian bubuk sampel ini dimasukkan kedalam kolom, selanjutnya pengelusian dapat dilaku-kan. Pola elusi yang dilakukan adalah peningkatan kepolaran secara berting-kat menggunakan eluen etil asetat: metanol.

Setelah proses pemisahan dan pemurnian, didapat senyawa murni hasil isolasi, selanjutnya dilakukan karakterisasi dengan uji titik leleh dan elusidasi struktur secara spektrometri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemisahan dan Pemurnian

Hasil pemurnian 0,618 g bubuk putih setelah dipisahkan dengan kromatografi kolom didapati bubuk putih yang murni sebanyak 78 mg dan setelah dilakukan uji titik leleh terdekomposisi mulai pada suhu 202^0C. Identifikasi dengan pereaksi Liebermann-Burchard (LB) memberi-kan warna merah pada plat kromatografi lapis tipis fasa normal (KLT) bila dilihat lampu UV 365 nm. Ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa glikosida.

Hasil monitoring selanjutnya memberikan noda tunggal pada plat KLT berbagai komposisi eluen yaitu Rf 0,11 (Etil asetat : Metanol (8:2) Rf 0,23 etil asetat : metanol (4:6), Rf 0,4 (Etil asetat : Metanol (5:5) Rf : 0,52 (Etil asetat: Metanol (6:4).

Berdasarkan hasil di atas, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi relatif murni dan siap untuk dilakukan pengukuran dengan spektroskopi

Analisis Spektroskopi

Data spektrum senyawa hasil isolasi menggunakan spektoskopi Ultraviolet menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang (λ) 202 dan 287 nm, ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil isolasi memiliki ikatan rangkap berkonyugasi dari senyawa aromatik yang tersubsitusi.

Spektrum Infra merah (IR) senyawa hasil isolasi memperlihatkan serapan melebar pada bilangan gelombang υ_{max} 3405 dan 3359 cm^{-1} ini mengindikasi adanya gugus hidroksil (OH), pita serapan pada bilangan gelombang υ_{max} 2925 cm^{-1} merupakan serapan C-H aromatik, pita serapan pada bilangan gelombang υ_{max} 1684 cm^{-1} merupakan serapan dari karbonil (C=O), sedangkan υ_{max}1082 merupakan ciri khas ikatan C-O. Gambar spektrum infra merah mengindikasikan bahwa senyawa

hasil isolasi mengandung gugus karboksilat dan senyawa aromatik.

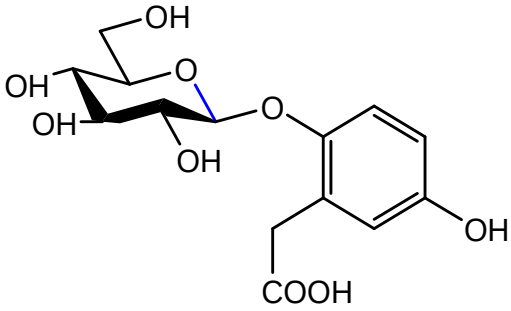
Analisis spektroskopi ^{13}C-NMR senyawa hasil isolasi memiliki 14 puncak yang menunjukkan jumlah atom karbon sebanyak 14 buah. Munculnya satu puncak pada δ 172 menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi mengandung gugus karboksilat. Hadirnya beberapa puncak pada pergeseran diatas 110 mengindikasikan adanya cincin karbon aromatik. Tidak adanya puncak dibawah δ 30 meyakinkan bahwa senyawa ini tidak mengandung gugus R-CH_3.

Spektroskopi DEPT (*Distortionles Enhancement by Polarization Transfer*) senyawa hasil isolasi dilakukan pada frekwensi 45, 90 dan 135 MHz. Data spektrum DEPT 45 MHz digunakan untuk menunjukkan jumlah gugus CH, CH_2, dan CH_3. Spektrum DEPT 90 MHz digunakan untuk melihat adanya gugus CH sedangkan data spektrum DEPT 135 dapat menunjukkan jumlah atom primer (CH), sekunder (CH_2), tersier (CH_3) dan kwartener (C). Pada spektrum DEPT 45 MHz dapat dilihat 10 puncak. Sepuluh tersebut adalah dua CH_2 dan delapan CH, dugaan ini dapat dibuktikan pula oleh munculnya delapan puncak keatas pada spektrum DEPT 90 Mhz yang mencirikan ikatan CH dan munculnya puncak kebawah sebanyak dua puncak pada spektrum DEPT 135 Mhz yang mencirikan CH_2. dari total jumlah atom C sebanyak 14 atom didapat kesimpulan bahwa CH berjumlah delapan, CH_2 ada dua puncak, sedangkan CH_3 tidak ada dan C ada empat atom.

Spektrum ^{1}H-NMR berguna untuk menunjukkan signal proton yang muncul pada pergeseran kimia tertentu. Karakterisasi spektrum ^{1}H-NMR senyawa hasil isolasi memperlihatkan pola yang spesifik, diantaranya adanya signal pada δ 7,06, 6,65, dan 6,63, yang mencirikan adannya senyawa aromatik yang tersubsutusi, munculnya δ 3,28-3,37 yang menunjukkan 5 atom H dari H-2',3',4'6'.Sedangkan yang mencirikan 2 proton pada H-7 dan H-5' muncul pada δ3,36 -3,85 (Lampiran).

Spektroskopi HMBC (^{1}H-^{13}C Heteronuclear Multiple Bond Connectivity) berguna untuk memberikan informasi letak proton terhadap karbon dengan mempelajari korelasi yang terjadi (dua atau tiga ikatan) antara proton dengan karbon sehingga dapat diketahui pola subsitusi struktur senyawa. Dari spektrum HMBC senyawa hasil isolasi dapat dilihat adanya korelasi antara dua proton (2H) pada H-7 dengan atom karbon pada posisi C-1, C-2, C-3 dan C-8 (COOH), proton pada H-3 berkorelasi dengan C-7 (warna merah). Korelasi proton H-1' juga terjadi dengan atom C-1 (warna biru) (Lampiran).

Berdasarkan analisa data-data spektroskopi UV, IR, ^{13}C NMR, DEPT, ^{1}H NMR dan HMBC mendukung usulan senyawa hasil isolasi sebagai suatu glikosida fenol yang dikenal dengan nama phaseoloidin [2-(β-D-glukopiranosiloksi) 5-hidroksi asam benzen asetat] Gambar 1. Selanjutnya, berdasarkan penelusuran literatur senyawa ini sudah pernah ditemukan dari tumbuhan yang sama di India. (Barua, 1988)



Gambar 1.
Struktur senyawa phaseoloidin

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan pada biji tumbuhan bingkek didapat kesimpulan bahwa senyawa yang didapat berdasarkan data spektroskopi adalah adalah phaseoloidin (2-(β-D-glukopiranosiloksi) 5-hidroksi asam benzen asetat).

Saran

Beberapa saran untuk penelitian lanjutan diantaranya:

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada akar, batang, daun dan biji tumbuhan untuk mengungkap kandungan kimia dari tumbuhan ini, mengingat baru sedikit kandungan kimia tumbuhan ini yang baru dilaporkan.
- Senyawa phaseoloidin merupakan senyawa glikosida yang tidak sulit untuk mengisolasinya, sehingga perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut tentang manfaat senyawanya ini sebagai bahan obat-obatan.

Ucapan terima kasih

Prof. Mamoru Kuketsu, Phd. atas bantuannya dalam pengukuran spektroskopi NMRA di University of Gifu, Jepang.

DAFTAR PUSTAKA

Barua, A. K., Chakrabarty, M., Datta, P.K., dan Ray, S. 1988. Phaseoloidin, A Homogentisic Acid Glucoside From *Entada phaseoloides*. J. *Phytochemist*, Vol. 27. No. 10. 3259-3261.

Boeskler, G., Gerhenson, J., dan Unsicker, S.B. 2011 Phenolic Glycosides of the Salicaceae and their Role as Anti-herbivore defences. Department of Biochemistry, Max Planck Institute, Jerman.

Dai, J., Kardono, L.B.S., Tsauri, S., Padmawinata,K., Pezzuto, J. M., Douglas, K. 1991. Phenylacetit Acid Derivates and A Thiamide Glycoside from *Entada phaseoloides*. *J. Phytochemistry*, Vol. 30, No. 11, 3749-3752.

Dong, Y., Shi, H., Wang, M., dan Xiaobo. 2009. A Validated LC Method for Simultaneus Determination of Three Major Component in *Entada phaseoloides. J. Chromatographia*. 71. 125-129

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia.* Badan Litbang Kehutanan Jakarta. Jilid III. 1390-1443.

Hui, X., Xiao, E., Ying-hong, Z., Guang-zhong, Y., Zhi-nan, M. 2010. Sulfur Containing Amides from (*Entada*

phaseoloides) J. Acta Pham Sin Vol. 45 624-626.

Ikegami, F.,Ohmiya, S., Ruangrungsi, N., Sakai, S. dan Murakoshi, I. 1987. Entamide B, A Second New sulphur-containing Amide From *Entada Phaseoloides. J. Phytochemistry*.Vol. 26, No. 5, 1525-1526.

Liu, W. C., Kugelman, M., Wilson, R. A., dan Rao, K. V. 1972. A Crystalline Saponin with Anti-Tumor Activiry from *Entada Phaseoloides.J.Phytochemistr*, Vol. 11, 171-173.

Utami. N., dan Robara. M. 2008. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Heksana daun *Ageratum conyzoides*. Lin. Prosiding Hasil Penelitian Unila.