

ANALYSIS OF TRITERPENOID COMPOUNDS AT THE LEVEL OF SOLUTION POLLARITY FROM WATER EXTRACT OF BEAN FRUIT (*Phaseolus Vulgaris L*)

Ragaya Abd.R Balafif¹, Yayuk Andayani² dan Erin Ryantin Gunawan³

¹ Guru Sekolah Menengah Atas Negeri 2 Gerung Lombok Barat NTB

² Dosen program Studi Magister Pendidikan IPA Program

Pascasarjana, Universitas Mataram

E-mail: rar.balafif@gmail.com

ABSTRACT: This study aims to analyze the triterpenoid group compounds from solvent partition result extract green bean fruit extract (*Phaseolus vulgaris* Linn) through increasing solvent polarity level. Extracts of beans was extracted by maceration using a water solvent (1: 18 w / v). The result of preliminary test resulted that the viscous water extract of green beans positively contained triterpenoid, and the result of GC-MS analysis showed that triterpenoid compound was present in the fraction of methanol extract that is tetracyclic triterpenoid type, lanostane: 9,19-cyclolanost-24-en-3-ol (cycloartenol) which has the molecular formula $C_{30}H_{50}O$ ($m/z = 426$).

Keywords: Bean Fruit, Triterpenoid, Water

ABSTRAK: Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis senyawa golongan triterpenoid hasil partisi pelarut dengan tingkat kepolaran pelarut yang meningkat pada ekstrak air buah buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn). Ekstrak buah buncis di ekstrak dengan cara maserasi menggunakan pelarut air (1: 18 w/v). Hasil uji pendahuluan menghasilkan bahwa ekstrak kental air buah buncis positif mengandung triterpenoid, dan hasil analisis KG-SM menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid terdapat pada fraksi ekstrak metanol yaitu senyawa tetrasiklik triterpenoid tipe lanostane: 9,19-cyclolanost-24-en-3-ol (*cycloartenol*) yang memiliki rumus molekul $C_{30}H_{50}O$ ($m/z = 426$).

Kata kunci: Buah Buncis, Triterpenoid, Air

PENDAHULUAN

Buncis dimanfaatkan sebagai kacang – kacang dan sebagai sayuran hijau yang dikonsumsi dalam bentuk segar atau hasil olahannya selain sebagai bahan pangan, buncis secara tradisional juga digunakan untuk pengobatan beberapa penyakit diantaranya diabetes, diare, disentri, eksim, jerawat, ginjal dan juga sebagai pelembut kulit (Andayani, 2003), serta buncis juga memiliki efek antioksidan, antimutagenik, antikarsinogenik, dan antiproliferatif pada berubah sel-sel (Camacho, 2006).

Senyawa metabolit sekunder yang memiliki bioaktifitas tinggi yaitu senyawa triterpenoid yang merupakan turunan terpenoid yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena (2-metilbuta-1,3-diene) yaitu kerangka karbon yang dibangun oleh enam satuan C_5 dan diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik (Balafif dkk, 2013). Senyawa ini berbentuk siklik atau asiklik dan sering

memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Widiyati, 2006). Senyawa triterpenoid menunjukkan aktivitas farmakologi yang signifikan, seperti antiviral, antibakteri, antiinflamasi, sebagai inhibisi terhadap sintesis kolesterol dan sebagai antikanker (Nassar dkk, 2010), sedang bagi tumbuhan yang mengandung senyawa triterpenoid terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai antifungus, insektisida, antipemangsa, antibakteri dan antivirus (Widiyati, 2006).

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa buah buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn) berpotensi sebagai antihiperlipidemik (penurunan kadar glukosa darah) terutama untuk ekstrak alkohol dan ekstrak kloroform yang diduga mengandung β -sitosterol dan stigmasterol yang bisa meningkatkan produksi insulin dan positif mengandung triterpenoid (Andayani, 2003). Beberapa bukti ilmiah lainnya yang menguatkan yaitu penelitian yang dilakukan oleh (Atchibri dkk, 2010) memperkirakan

bahwa efek antihiperlipidemik yang dimiliki oleh *Phaseolus vulgaris* karena adanya senyawa terpenoid dan saponin. Kini kecenderungan masyarakat lebih memilih untuk beralih ke obat-obatan yang terbuat dari bahan alam karena efek yang relatif ringan serta harganya yang murah. Salah satu bahan alam yang digunakan untuk pengobatan adalah buah buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn).

METODE

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk menganalisis senyawa adalah GC-MS QP - 2010 merek Shimadzu

Bahan yang digunakan adalah buah buncis, Aquades, Diklorometana *pro-analysis*, n-Heksana *pro-analysis*, Metanol *pro-analysis*, H₂SO₄ pekat, Asam asetat glasial.

Ekstrak dan partisi buah buncis (*Phaseolus Vulgaris* L)

1000 gram simplesia buah buncis dimaserasi menggunakan pelarut air (aquades). Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 x 24 jam hingga diperoleh perbandingan total simplesia dengan pelarut adalah 1: 18 (w/v) (Balafif dkk, 2013). Ekstrak dipisahkan sepertiga dari volume awal menggunakan pemanas mantel dengan kontrol suhu 100°C hingga diperoleh ekstrak kental (Balafif dkk, 2013).

Ekstrak kental buah buncis dipartisi menggunakan pelarut berturut – turut dengan heksana 1: 2 v/v , DCM 1: 2 v/v dan metanol 1:2 v/v hingga diperoleh fraksi heksana (EH), fraksi residu heksana (RH), fraksi ekstrak DCM (HEDCM), fraksi residu residu DCM (HRDCM), fraksi metanol (HRDEM) dan fraksi residu metanol (HRDRM). Masing-masing fraksi hasil partisi yang diperoleh di uji pereaksi Lieberman – Burchard (LB)

Uji Triterpenoid

Menggunakan metode Lieberman – Burchard (LB) yaitu 2 mg ekstrak kering dilarutkan dalam anhidrida asetat, dipanaskan sampai mendidih, didinginkan dan kemudian 1 ml H₂SO₄ pekat ditambahkan pada tabung reaksi, terbentuk warna merah atau ungu menunjukkan kandungan triterpenoid (Saha dkk, 2011).

Analisis senyawa triterpenoid menggunakan KG-SM

Analisis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi dari ekstrak buncis dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (KG-

SM). Fraksi-fraksi yang diperoleh di analisis dengan alat KG-SM. Kondisi *running* KG-SM *shimadzu GC-2010 plus* dengan menggunakan *library* jenis *wiley* pada suhu injeksi 280°C menggunakan kolom kapiler Rts-5MS dengan pemograman suhu 40°C ke 220°C dengan kenaikan 15°C/menit dan dari 220°C ke 300°C dengan kenaikan 40°C/menit, gas pembawa yang digunakan adalah gas helium dengan tekanan sebesar 149,9 KPa dan total alir 2,77 mL/menit dan sampel yang di injek sebesar 1µL (Balafif dkk, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi, Partisi dan Uji Fitokimia Senyawa Triterpenoid

1000 gr serbuk kering buah buncis di maserasi menggunakan 18000 ml air, diperoleh ekstrak kental dan selanjutnya ekstrak kental buah buncis di partisi pelarut dengan tingkat kepolaran meningkat dan di uji pereaksi LB sehingga diperoleh hasil pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia dengan pereaksi lieberman-burchard (LB) untuk triterpenoid

No	KEGIATAN	HASIL	KETERANGAN
1	Partisi ekstrak buncis dan n-heksana -EB : n-heksana = 1 : 2	Terjadi dua lapisan yaitu • lapisan atas n-heksana (EH) • lapisan bawah residu heksana (RH)	• Bagian atas berwarna coklat muda kekuningan muda keruh kental • Bagian bawah coklat cair
2	Partisi lanjutan dari residu n-heksana (RH) dengan DCM - RH : DCM = 1:2	Terjadi dua lapisan yaitu • lapisan atas residu DCM (HRDCM) • lapisan bawah ekstrak DCM (HEDCM)	• Bagian atas berwarna coklat muda • Bagian bawah berwarna coklat tua
3	Partisi lanjutan dari residu DCM (HRDCM) dengan metanol - HRDCM : MeOH = 1 : 2	Terjadi dua lapisan yaitu • lapisan atas metanol (HRDEM) • lapisan residu metanol (HRDRM)	• Bagian atas berwarna coklat tua kekuningan • Bagian bawah berwarna coklat muda keruh

Tabel 2. Hasil uji fitokimia dengan pereaksi lieberman - burchard (LB) untuk triterpenoid

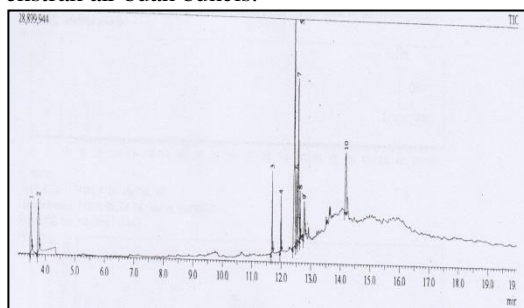
No	Hasil partisi	Sebelum LB	Sesudah LB
1	Ekstrak air buncis (EB)	Coklat	Merah ungu kecoklatan
2	Ekstrak n-heksana (EH)	coklat kekuningan muda	Merah muda kecoklatan
3	Residu n heksana (RH)	Coklat	Merah kecoklatan
4	Ekstrak DCM (HEDCM)	Putih keruh kekuningan	Coklat muda
5	Residu DCM (HRDCM)	Coklat kopi susu	Merah kecoklatan
6	Ekstrak Metanol (HRDEM)	Coklat muda kekuningan bening	Merah kecoklatan
7	Residu Metanol (HRDRM)	Coklat muda keruh	Coklat

Ket : ++ = banyak menunjukkan positif triterpenoid
+ = sedikit menunjukkan positif triterpenoid
- = negatif triterpenoid

Hasil uji pereaksi Lieberman – Burchard (LB) Ekstrak pekat buah buncis (EB) menunjukkan bahwa dalam ekstrak kental buah buncis positif mengandung senyawa triterpenoid yang ditandai dengan perubahan warna dari coklat menjadi merah ungu kecoklatan, hasil ini sesuai dengan penelitian Atchbri *et al*, (2010b) bahwa ekstrak air biji buah buncis mengandung senyawa terpenoid. Selanjutnya ekstrak positif triterpenoid di analisis menggunakan KG-SM

Analisis KG-SM

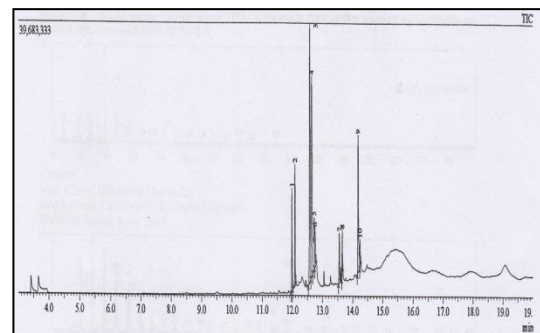
Hasil analisis KG –SM pada hasil partisi menunjukkan bahwa senyawa triterpenoid terdeteksi pada fraksi ekstrak metanol (HRDEM) dari hasil partisi bertingkat ekstrak air buah buncis.



Gambar 1. Kromatogram ekstrak heksana dari hasil partisi ekstrak air buah buncis (EH)

Tabel 3. Hasil KG-SM ekstrak heksana dari hasil partisi ekstrak air buah buncis (EH)

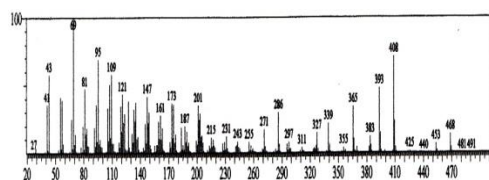
No	Peak	R.time	% area	Nama
1	1	3,506	7,99	unknow
2	2	3,759	8,12	unknow
3	3	11,687	6,09	Hexadecanoid acid (CAS)
4	4	11,985	3,80	palmitic acid
5	5	12,443	30,57	Hexadecanoid acid (CAS)
6	6	12,511	7,10	palmitic acid
7	7	12,574	18,00	Octdec-9-enoid acid
8	8	12,631	3,67	Octadecanoid acid (CAS)
9	9	12,775	4,28	Stearic acid
10	10	14,184	10,38	Heptadecene-8-carbonic acid
				Octadecanoid acid (CAS)
				Stearic acid
				9-octadecoid acid (z)-2-hydroxil-1-ethyl ester (CAS) 2
				monolein
				9-octadecoid acid (z)-2-hydroxil-1-ethyl ester (CAS) 2
				monolein



Gambar 2. Kromatogram ekstrak metanol dari hasil partisi berlanjut heksana-DCM-metanol (HRDEM)

Tabel 4. Hasil KG-SM ekstrak metanol dari hasil partisi berlanjut heksana-DCM-metanol (HRDEM)

No	Peak	R.time	% area	Nama
1	1	11,989	7,02	Hexadecanoid acid
2	2	12,020	7,48	Hexadecanoid acid,ethyl ester
3	3	12,583	28,05	Heptadecene-(8)-carbonic acid
4	4	12,645	23,65	Ethyl linoleat
5	5	12,724	8,57	Ethyl octadecanoate
6	6	12,755	3,91	9,19-cyclolanost-24-en-3-ol, (3.beta)-(CAS)Cycloartenol.
7	7	13,558	4,83	olealdehide
8	8	13,655	2,72	Hexadecanoid acid,2-hyroxy-1-ethyl ester
9	9	14,190	12,70	2-oleoyl glycerol ether
10	10	14,250	2,08	Beta-glyceryl monostearate



Gambar 3. Fragmentasi senyawa 9,19-cyclolanost-24-en-3-ol (cycloartenol)

Senyawa triterpenoid dari hasil fragmentasi spektroskopi massa memiliki ion kelimpahan yang paling tinggi (*based peak*) pada $m/e = 69$, *based peak* merupakan fragmen yang paling stabil pada suatu molekul dan intensitas fragmen lain relatif pada puncak dasar yang berarti kestabilannya juga relatif (Sitorus, 2009). Senyawa 9,19-cyclolanost-24-en-3-ol (*cycloartenol*) memiliki rumus molekul $C_{30}H_{50}O$, untuk memudahkan dalam memperkirakan struktur senyawa pada data fragmentasi salah satunya dapat dilihat dari jumlah ketidakjenuhan (JKJ) yaitu perbedaan jumlah hidrogen (H) dibagi dua dari suatu molekul dibandingkan dengan alkana normalnya (Sitorus, 2009). Hasil perhitungan jumlah ketidakjenuhan dari senyawa *cycloartenol* = 6 yang berarti bahwa senyawa *cycloartenol* mempunyai 5 cincin dan 1 ikatan rangkap. Berdasarkan teori fragmentasi mengatakan bahwa ketinggian relatif dari ion molekuler terbesar untuk rantai lurus sesuai dengan derajat kenaikan cabang dan ikatan rangkap cenderung mengalami pemutusan pada posisi alilik (Supratman, 2010) ini sesuai dengan hasil yang di dapat bahwa intensitas relatif tertinggi terdapat pada $m/e = 69$ yang terputus pada C_{22} rantai lurus juga merupakan posisi alilik dari ikatan rangkap yang dimiliki. Fragmentasi senyawa *cycloartenol* tidak memunculkan $M = 426$ yang merupakan berat molekul dari senyawa tersebut tetapi yang muncul adalah fragmen $m/e = 408$ ini disebabkan pelepasan molekul air (H_2O) dari ion molekuler ($M-H_2O$), selanjutnya puncak $m/e = 393$ pecah dengan melepas radikal metil ($M - H_2O - CH_3$). Menurut Supratman (2010) kehilangan molekul kecil yang stabil dari suatu molekul yaitu termasuk kehilangan air ($m/e = 18$) terjadi pada senyawa alkohol dan asam asetat ($m/e = 60$) dari senyawa asetat, ini dibuktikan dengan hasil yang didapat bahwa adanya fragmen $m/e = 408$ yang muncul pada fragmentasi senyawa tersebut. Senyawa *Cycloartenol* yang dibentuk oleh ikatan kovalen dengan perbedaan keelektronegativitasnya yang kecil sehingga dapat disebut sebagai senyawa non polar. Jika

berpatokan pada prinsip *like dissolves like* maka *cycloartenol* seharusnya dapat larut dalam pelarut non polar, namun pada hasil penelitian membuktikan bahwa senyawa triterpenoid tersebut dapat larut dalam air.

Kelarutan sebagian besar disebabkan oleh polaritas atau momen dipol dari pelarut, namun pertimbangan tentang kepolaran saja tidak cukup untuk menerangkan kelarutan zat dalam air (Kurniawan *et al*, 2005), dalam penelitian ini senyawa triterpenoid yang bersifat non polar dapat larut dalam air yang bersifat polar, hal ini diduga disebabkan oleh gaya antarmolekul yaitu gaya dipol-dipol induksian dan ikatan hidrogen. Molekul polar yang memiliki dipol permanen akan menginduksi molekul nonpolar yang tidak memiliki dipol, sehingga akan terjadi gaya elektrostatik di antara keduanya atau yang disebut gaya dipol-dipol induksi (Effendi, 2006). Gaya inilah yang menyebabkan senyawa triterpenoid (*cycloartenol*) yang bersifat nonpolar dapat larut dalam air yang bersifat polar. Selain itu juga diduga dapat disebabkan oleh kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen melalui atom O (oksigen) pada gugus hidroksil maupun ester yang dimiliki oleh senyawa *cycloartenol* melakukan ikatan hidrogen dengan atom H pada air (H_2O) sehingga senyawa tersebut dapat larut dalam air. Molekul air adalah salah satu contoh kasus bekerjanya gaya dipol dalam molekul yang melibatkan proton. Atom oksigen dalam air cenderung menarik semua elektron molekul sehingga tampak seperti ujung negatif dari dipol dan kedua atom H membentuk ujung positif dipol, dan masing-masingnya dapat menarik oksigen negatif dari molekul lain di dekatnya (Kurniawan *et al*, 2005).

Ekstrak n-heksana (EH) yaitu hasil partisi dari ekstrak air buah buncis pada analisis KG-SM tidak ditemukan adanya senyawa triterpenoid, ini juga dapat disebabkan oleh n-heksana yang bersifat non polar tidak dapat mengurangi gaya tarik-menarik antara dipol terinduksi antara senyawa triterpenoid dalam air, karena tetapan dielektrik n-heksana yang rendah. n-heksana juga tidak dapat memecahkan ikatan kovalen dan elektrolit yang berionisasi lemah karena pelarut non polar termasuk dalam golongan pelarut aprotik dan tidak dapat membentuk jembatan hidrogen dengan non elektrolit (Effendi, 2006) oleh sebab itu senyawa triterpenoid sangat sedikit larut dalam fraksi heksana (EH) dari ekstrak air buah buncis sehingga pada analisis KG-SM dilihat dari *retensi time* (R_t) senyawa triterpenoid pada ekstrak metanol hasil repartisi

atau partisi lanjutan dari residu DCM dengan metanol (HRDEM) yaitu 12,790 menit (Gambar 2 dan Tabel 4) yang hampir sama dengan senyawa mayor pada ekstrak heksana hasil partisi dari ekstrak air buah buncis (EH) yaitu *octadec-9-enoic acid* sebesar 30,57% pada 12,485 menit (Gambar 1 dan Tabel 3), sehingga senyawa triterpenoid tidak dapat terdeteksi pada hasil partisi EH.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis hasil fraksi dari ekstrak air buah buncis menggunakan KG-SM dapat di simpulkan bahwa Senyawa triterpenoid pada ekstrak air buah buncis terdapat pada fraksi partisi metanol yaitu senyawa triterpenoid tetrasiklik dari tipe lenostane : senyawa *cycloartenol*

DAFTAR RUJUKAN

- Andayani, Y. 2003. *Mekanisme Aktivitas Antihiperqlikemik Ekstrak Buncis (Phaseolus vulgaris Linn) pada tikus diabetes dan identifikasi komponen Aktif*. Disertasi S3. Institut Pertanian Bogor.
- Atchibri A L, Ocho Anin., K. D. Brou., TH, Kouakou., Y J, Kouadio., & Gnakri, D .2010a. Screening for antidiabetic activity and phytochemical constituents of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (17), 1757-1761.
- Atchibri A L, Ocho Anin., Kouakou T H., Brou K D., Kouadio Y J., & Gnakri D. 2010b. Evaluation Of Bioactive Components In Seeds Of *Phaseolus Vulgaris* L (Fabaceae) Cultivated In Côte D'ivoire. *Journal Of Applied Biosciences*, 31, 1928 – 1934
- Balafif, Ragaya., Andayani, Y., Ryantin G, Erin. 2013. Analisis Senyawa Triterpenoid dari hasil fraksinasi ekstrak air buah buncis. *Jurnal Chemistry Progress*, 6 No 2.
- Camacho ,R.Reynoso., Ramos-Gomez, M., and Loarca-Pina, G. 2006. Bioactive components in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal Research Signpost Advances in Agricultural and Food Biotechnology* : 217- 236.
- Effendy. 2006. *Ikatan Kimia dan Kimia Anorganik Teori VSEPR*
- Kepolaran dan Gaya Antar Molekul*. Malang: Banyumedia Publishing
- Kurniawan ,Yossy & Nur, Muhammad. 2005. Studi Pemodelan Dinamika Proton Dalam Ikatan Hidrogen H₂O. *Jurnal Berkala Fisika*, 8, 107-117
- Nassar, Zeyad., & Abdalrahim, Amin MS. 2010. The Pharmacological Properties of terpenoid from *Sandoricum Koetjape*. *Journal Medcentral*, 2010, 1-11.
- Saha, Santanu., Subrahmanyam, EVS., Kodangala, Chandrashekar., & Shastry, Shashi. 2011. Isolation and characterization of triterpenoids and fatty acid ester of triterpenoid from leaves of *Bauhinia variegata*. *Journal Der Pharma Chemica*, 3, 28-37
- Sitorus, Marham. 2009. *Spektroskopi: Eludasi Struktur Molekul Organik*. Jogjakarta : Graha Ilmu
- Supratman, Unang. 2010. *Eludasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung : Widya Padjajaran
- Widiyati, Eni. 2006. Penentuan adanya senyawa triterpenoid dan uji aktifitas Biologi pada beberapa spesies tanaman obat tradisional masyarakat pedesaan bengkulu. *Jurnal gradien*, 2, 116-122