



# Aktivitas Antibakteri Fraksi Biji (KEBEN) *Barringtonia asiatica* L. Kurz pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

(Antibacterial activity of *Barringtonia Asiatica* L. Kurz seeds fractions against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*)

**Akhmad Khumaidi\*, Yustika Yustika, & Arsa Wahyu Nugrahani**

Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Tadulako, Kec. Mantikulore, Kota Palu, Sulawesi Tengah

**ABSTRACT:** *Barringtonia asiatica* L. Kurz (keben) seeds are one of the parts of medicinal plants that are used by the Tomini people as a medicine for eye infections. This study aims to determine the antibacterial activity of the eben seeds fractions by using the diffusion method (cylinder plate) and to identify antibacterial compounds from the fraction that has the highest antibacterial activity value using TLC-bioautography method and chromogenic reagents. The results of the antibacterial activity test showed that the *n*-hexane, ethyl acetate, and water fractions from eben seeds had an antibacterial activity with the highest inhibitory diameter in the ethyl acetate fraction, namely  $21.08 \pm 0.72$  (mm $\pm$ SD) in *Staphylococcus aureus* and  $21.53 \pm 1.00$  (mm $\pm$ SD) in *Escherichia coli* bacteria. The results of thin layer chromatography (TLC)-bioautography of the ethyl acetate fraction against *Staphylococcus aureus* suggest that compounds that have antibacterial activity are steroids (Rf 0.75 and 0.78) and terpenoid compounds (Rf 0.3) in *Escherichia coli* bacteria. Based on these results, the ethyl acetate fraction of eben seeds can be considered as a source of the antibacterial natural compounds.

**Keywords:** antibacterial; *Barringtonia asiatica* L. Kurz seeds; fractions; TLC-bioautography.

**ABSTRAK:** Biji eben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz) merupakan salah satu bagian tumbuhan obat yang secara empiris dimanfaatkan oleh masyarakat Tomini sebagai obat infeksi mata. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi biji eben dengan menggunakan metode difusi agar teknik sumuran serta melakukan identifikasi senyawa antibakteri dari fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)-bioautografi dan pereaksi warna. Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari biji eben memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter hambat tertinggi pada fraksi etil asetat yaitu  $21,08 \pm 0,72$  (mm $\pm$ SD) pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan  $21,53 \pm 1,00$  (mm $\pm$ SD) pada bakteri *Escherichia coli*. Hasil dari KLT-bioautografi fraksi etil asetat terhadap *Staphylococcus aureus* memberikan dugaan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah steroid (Rf 0,75 dan 0,78) dan senyawa terpenoid (Rf 0,3) pada bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil tersebut fraksi etil asetat biji eben dapat dipertimbangkan sebagai sumber antibakteri bahan alam.

**Kata kunci:** antibakteri; biji *Barringtonia asiatica* L. Kurz; fraksi; KLT-bioautografi.

## Pendahuluan

Riset-riset untuk penemuan bahan antibakteri dari bahan alam (tumbuhan obat) telah banyak dilakukan, namun para saintis terus berupaya untuk mencari senyawa-senyawa antibakteri baru [1]. Pencarian ini dilakukan karena saat ini bakteri-bakteri penyebab infeksi telah banyak yang resisten terhadap zat antibakteri yang sudah ada sehingga penanganan infeksi bagi individu yang mengalami infeksi menjadi lebih efektif [2]. Pemanfaatan tumbuhan di sekitar kita melalui penggunaan secara turun temurun dapat menjadi alternatif dalam pencarian senyawa antibakteri baru terutama dari hasil kajian etnofarmakologi ataupun etnobotani [3–5].

Salah satu spesies tumbuhan yang potensial sebagai obat antibakteri adalah tumbuhan *Barringtonia Asiatica* L. Kurz yang biasa dikenal dengan “keben” (*Lecythydaceae*) [6,7], tumbuhan obat yang di dimanfaatkan oleh masyarakat di daerah Teluk Tomini (Gambar 1). Masyarakat tersebut secara empiris menggunakan tumbuhan eben untuk pengobatan mata yang mengalami berbagai gangguan seperti katarak dan infeksi bakteri dengan cara memeras air buah eben yang masih muda kemudian meneteskannya pada mata. Masyarakat di Kepulauan Polinesia dan Nigeria memanfaatkan cairan dari kulit pohon *Barringtonia asiatica*

### Article history

Received: 21 Jan 2022  
Accepted: 28 Agust 2022  
Published: 24 Okt 2022

### Access this article



\*Corresponding Author: Akhmad Khumaidi

Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Tadulako, Jl. Soekarno Hatta No.KM. 9, Tondo, Kec. Mantikulore, Kota Palu, Sulawesi Tengah 94118 | Email: [akhmadkhumaidipalu@gmail.com](mailto:akhmadkhumaidipalu@gmail.com)

yang dihancurkan untuk mengobati sakit dada dan jantung. Tanaman tersebut di Papua Nugini digunakan untuk mengobati sakit perut [8,9].

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air biji keben memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *Artemia salina* sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan antikanker [10]. Menurut Bustanussalam dan Simanjuntak (2009), biji keben mengandung senyawa glikosida yang mempunyai daya toksisitas ( $LC_{50}$ ) sebesar 30,19 ppm [7]. Penelitian Salaki dan Pelealu (2012) juga membuktikan bahwa biji keben merupakan insektisida botani yang sangat baik untuk pengendalian populasi serangga *Aphis gossypii* [11]. Selain itu, ekstrak biji keben memiliki daya penghambatan yang kuat terhadap jamur *Curvularia verruculosa* [12]. Aktivitas terhadap *Streptococcus mutans* juga telah dilaporkan terkait ekstrak biji keben [6].

Berdasarkan hasil-hasil penelitian yang telah dipublikasikan, ekstrak biji keben berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antimikroba seperti antibakteri. Oleh karenanya, pemisahan senyawa antibakteri yang memiliki daya hambat pada pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* melalui pemanfaatan perbedaan polaritas pelarut serta mengidentifikasi senyawa hasil pemisahannya perlu dilakukan karena sejauh ini berdasarkan literatur belum dilaporkan terkait hal tersebut.

## Metode Penelitian

### Bahan

Etanol 96% (Merck), etil asetat (Merck), dimetilsulfosida (DMSO) (Supelco), *n*-heksana (Merck), medium *Nutrient Agar* (OXOID), lempeng KLT GF<sub>245nm</sub> (Merck), pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi anisaldehyd-asam sulfat, pereaksi besi (III) klorida ( $FeCl_3$ ) 1%, larutan NaCl 0,9% (Otsuka), asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) 10% (Merck), larutan 0,5 McFarland I, larutan kloramfenikol

0,1 %, biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

### Ekstraksi

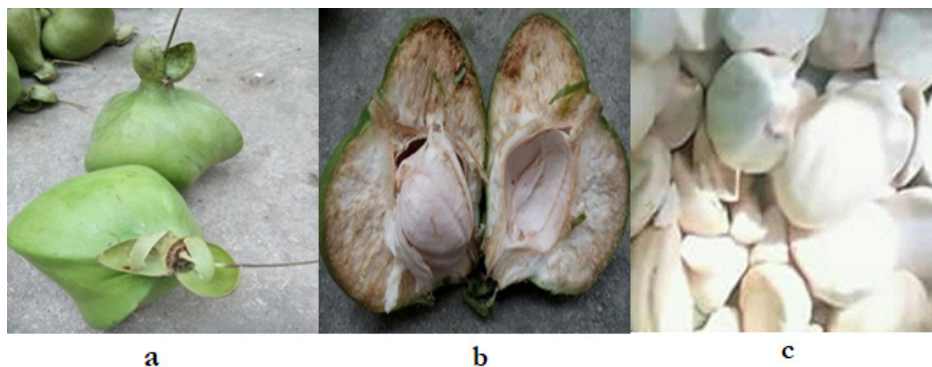
Sebanyak 846,44 g hasil parutan biji keben yang telah kering dimaserasi dengan 3 L pelarut etanol 96%. Lama proses perendaman parutan biji keben adalah 5 hari, dan setiap harinya dilakukan pengadukan. Pemekatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan *Vacuum rotary evaporator* pada suhu 60°C dengan kecepatan 100 rpm setelah dilakukan penyaringan, selanjutnya ekstrak dikeringkan selama 3 hari [13].

### Fraksinasi

Fraksinasi menggunakan corong pisah digunakan untuk mendapatkan fraksi *n*-heksana, larut etil asetat, dan larut air secara berturut-turut, sesuai dengan tingkat polaritas pelarut (nonpolar ke polar). Ekstrak etanol dilarutkan dalam campuran etanol-air (1:2) sebanyak 60 mL, lalu dicukupkan volumenya menggunakan air untuk mencapai 100 mL. Suspensi ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah lalu ditambahkan 100 mL *n*-heksana, kemudian dikocok dan dipisahkan antara yang larut *n*-heksana dan air. Fraksinasi dilakukan hingga fraksi larut *n*-heksana berwarna bening. Selanjutnya fraksinasi dilakukan menggunakan etil asetat dan air. Fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air diuapkan lalu dikeringkan, kemudian diuji aktivitas antibakterinya [14].

### Aktivitas Antibakteri

Dibuat plate agar dengan cara memasukkan 20 mL medium NA sebagai lapisan dasar. Campuran homogen 0,1 mL suspensi bakteri uji sesuai standard McFarland I dan 20 mL medium NA ditambahkan sebagai lapisan atas. Kemudian dimasukkan larutan uji sebanyak 50  $\mu$ L sehingga diperoleh konsentrasi 0,0625; 0,125; 0,25, 0,50, 1,00 mg/ $\mu$ L. Kontrol negatif (pelarut dimetil sulfoksida (DMSO))



**Gambar 1.** Buah keben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz) a. Buah keben utuh, b. Buah keben sudah dibelah, c. Biji keben

**Tabel 1.** Hasil fraksinasi biji keben

Fraksi	Jumlah Fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -Heksana	5,09	25,45
Etil Asetat	4,61	23,05
Air	7,23	36,15
<i>Recovery</i>	16,93	84,65

dan kontrol positif (kloramfenikol) ditambahkan di dalam setiap plate agar. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu diukur zona bening yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong (Mitutoyo, Indonesia) [15,16].

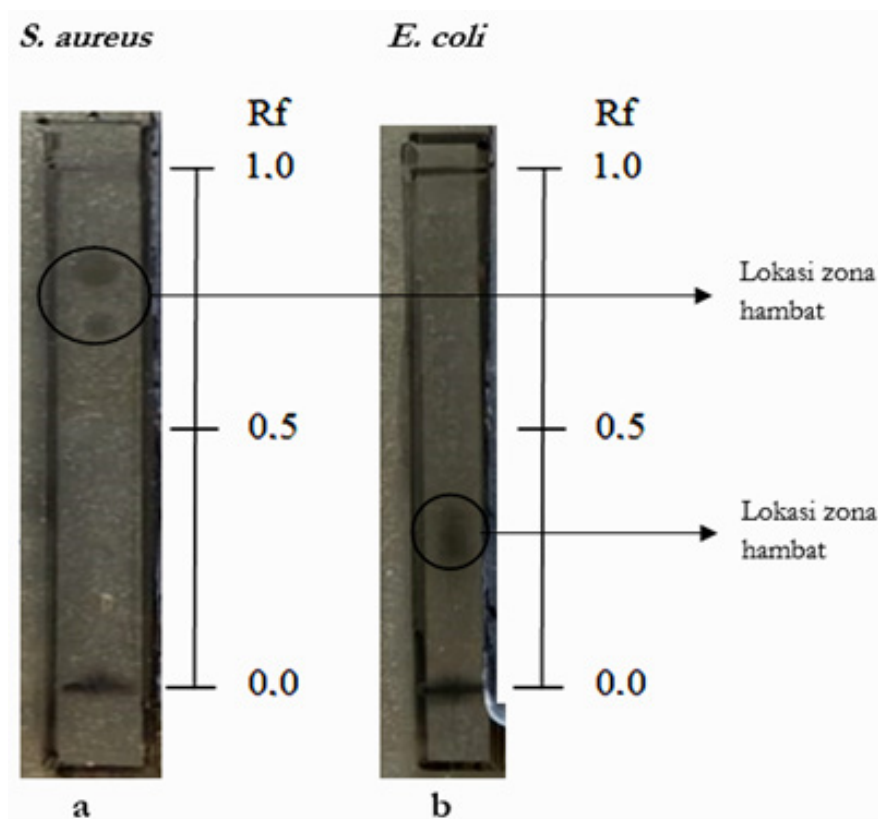
#### KLT-Bioautografi dan Identifikasi Senyawa

2 mg fraksi dengan aktivitas antibakteri tertinggi (fraksi etil asetat) dilarutkan dengan 1 mL campuran kloroform-metanol (1:1). Larutan tersebut ditotolkan ke lempeng KLT dan dielus menggunakan eluen dengan pemisahan terbaik yang telah diorientasi sebelumnya (kloroform-

etil asetat-metanol (5:2:2)). Medium diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C setelah lempeng ditempelkan pada permukaan medium yang telah berisi inokulum bakteri selama 30 menit. Noda (senyawa) yang memiliki aktivitas antibakteri akan menghasilkan zona bening pada medium [17–19]. Identifikasi golongan senyawa antibakteri terhadap hasil uji KLT-bioautografi dilakukan dengan menggunakan pereaksi penampak bercak yaitu FeCl<sub>3</sub> 1%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, pereaksi anisaldehyd-asam sulfat dan pereaksi Liebermann-Burchard [20,21].

**Tabel 2.** Aktivitas antibakteri fraksi biji keben terhadap *Staphylococcus aureus*

Sampel Uji	Konsentrasi (mg/μL)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata Diameter (mm ± SD)
		D1	D2	D3	
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,0625	8,45	9,76	8,11	8,77 ± 0,87
	0,125	9,50	10,15	10,22	9,96 ± 0,40
	0,25	11,59	11,45	12,15	11,73 ± 0,37
	0,50	13,50	14,56	15,23	14,43 ± 0,87
	1,00	19,50	21,11	20,50	20,37 ± 0,81
Kontrol (+)	0,10	24,50	24,90	25,30	24,90 ± 0,40
Kontrol (-)	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00
Fraksi Etil Asetat	0,0625	9,50	9,90	9,20	9,53 ± 0,35
	0,125	11,05	10,50	11,50	11,02 ± 0,50
	0,25	13,45	13,15	13,23	13,28 ± 0,16
	0,50	15,15	15,40	16,55	15,70 ± 0,75
	1,00	20,25	21,55	21,45	21,08 ± 0,72
Kontrol (+)	0,10	25,10	25,65	25,90	25,55 ± 0,41
Kontrol (-)	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00
Fraksi Air	0,0625	6,50	7,00	7,15	6,88 ± 0,34
	0,125	7,25	7,80	7,24	7,43 ± 0,32
	0,25	10,95	9,90	8,50	9,78 ± 1,23
	0,50	14,05	13,20	13,30	13,52 ± 0,46
	1,00	15,50	15,65	15,85	15,67 ± 0,18
Kontrol (+)	0,10	24,70	25,15	25,40	25,08 ± 0,35
Kontrol (-)	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00



**Gambar 2.** Hasil pengujian KLT-bioautografi (eluen : kloroform-etil asetat-metanol (5:2:2), jarak elusi 7 cm)

## Hasil dan Diskusi

Hasil maserasi parutan biji keben dengan pelarut etanol 96% selama 5 x 24 jam sebanyak 131,37 g dengan nilai persen rendemen 15,52%. Rendemen ini lebih rendah jika dibandingkan dengan yang dilakukan oleh Bustanussalam (2009) yaitu 51,70% dengan pelarut metanol [7]. Hasil ekstraksi lebih tinggi yakni sebesar 23,7% dengan pelarut metanol secara maserasi selama 3 hari (sampel berbentuk serbuk) [22]. Menurut Fajrian dkk. (2020), hasil ekstraksi sampel secara maserasi dengan pelarut metanol menghasilkan rendemen yang lebih besar jika dibandingkan dengan pelarut etanol [23]. Hal ini dapat terjadi karena adanya perbedaan polaritas antara etanol dan metanol, termasuk dalam hal viskositas [24–26]. Meskipun metanol merupakan pelarut yang baik dan umum digunakan dalam mengekstraksi senyawa, namun metanol lebih toksik jika dibandingkan dengan pelarut alkohol lainnya, sedangkan etanol lebih ramah terhadap lingkungan [27–29].

Fraksinasi terhadap ekstrak etanol dilakukan dengan cara fraksinasi cair-cair yakni dengan menggunakan alat corong pisah dan pelarut berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air (Tabel 1).

Berdasarkan data, diketahui fraksi yang terbanyak berada pada fraksi air, selanjutnya fraksi *n*-heksana dan etil asetat secara berurutan menurut metode yang digunakan. Hal ini diduga akibat proses pelarutan ekstrak etanol dengan campuran etanol-air (1:2). Air dengan adanya etanol dapat meningkatkan kelarutannya. Etanol dapat menjadi pilihan yang lebih baik berdasarkan toksisitasnya yang lebih rendah dan kemampuan dalam meningkatkan kelarutan pelarut untuk mengekstraksi [30].

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi biji keben terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dapat menghambat pertumbuhan kedua spesies bakteri tersebut. Hasil pengukuran diameter zona hambat dari fraksi-fraksi dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3. Berdasarkan hasil pengujian, fraksi yang memberikan aktivitas penghambatan dari yang terbesar ke yang terkecil adalah fraksi etil asetat, *n*-heksana dan air secara berurutan.

Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa dengan metode bioautografi kontak (Gambar 2). Hasil pengujian aktivitas antibakteri secara KLT-bioautografi dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil identifikasi dengan kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak etil asetat menggunakan pereaksi semprot  $H_2SO_4$ , anisaldehyd-asam sulfat, Liebermann-

**Tabel 3.** Aktivitas antibakteri biji keben terhadap *Escherichia coli*

Sampel Uji	Konsentrasi (mg/ $\mu$ L)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-Rata Diameter (mm $\pm$ SD)
		D1	D2	D3	
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,0625	7,45	7,50	8,25	7,73 $\pm$ 0,45
	0,125	8,25	8,50	9,30	8,68 $\pm$ 0,55
	0,25	9,55	9,50	10,52	9,86 $\pm$ 0,58
	0,50	14,21	13,50	14,21	13,97 $\pm$ 0,41
	1,00	19,25	20,10	21,02	20,12 $\pm$ 0,89
Kontrol (+)	0,10	26,20	26,15	25,15	25,83 $\pm$ 0,59
Kontrol (-)	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00 $\pm$ 0,00
Fraksi Etil Asetat	0,0625	7,90	8,25	9,21	8,45 $\pm$ 0,68
	0,125	9,45	9,50	10,17	9,71 $\pm$ 0,40
	0,25	11,95	12,20	12,35	12,17 $\pm$ 0,20
	0,50	14,90	15,00	15,24	15,05 $\pm$ 0,17
	1,00	20,50	21,60	22,50	21,53 $\pm$ 1,00
Kontrol (+)	0,10	26,60	25,90	25,50	26,00 $\pm$ 0,56
Kontrol (-)	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00 $\pm$ 0,00
Fraksi Air	0,0625	6,50	6,90	7,10	6,83 $\pm$ 0,31
	0,125	6,70	6,95	7,19	6,95 $\pm$ 0,25
	0,25	7,95	8,45	8,52	8,31 $\pm$ 0,31
	0,50	16,10	15,92	17,12	16,38 $\pm$ 0,65
	1,00	17,90	18,64	18,50	18,35 $\pm$ 0,39
Kontrol (+)	0,10	24,95	25,10	26,28	25,44 $\pm$ 0,73
Kontrol (-)	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00 $\pm$ 0,00

Burchard dan  $\text{FeCl}_3$  1% dapat dilihat pada [Tabel 5](#).

Dari hasil tersebut diduga bahwa pada fraksi etil asetat mengandung senyawa terpenoid dan steroid. Hasil KLT-bioautografi menunjukkan bahwa terdapat tiga bercak/noda yang memberikan zona hambat yaitu pada Rf 0,3; 0,75; 0,78. Berdasarkan hasil identifikasi dengan pereaksi semprot Rf 0,3 memberikan warna ungu (cahaya tampak) setelah disemprot dengan pereaksi anisaldehyd asam sulfat dan dipanaskan pada suhu 105°C. Hal ini menunjukkan bahwa bercak tersebut positif mengandung senyawa terpenoid kelompok triterpen [\[31,32\]](#). Bercak dengan Rf 0,75 memberikan warna coklat setelah disemprot dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ . Warna ini memberikan informasi bahwa bercak tersebut diduga merupakan golongan senyawa steroid [\[31\]](#). Warna abu-abu (pereaksi anisaldehyd asam sulfat) dan coklat-kehijauan (asam sulfat) diberikan oleh bercak dengan Rf 0,78. Hasil ini menguatkan dugaan bahwa bercak tersebut diduga juga merupakan senyawa steroid. Senyawa *echysteroid* seperti 20-hydroxyechysone

(20E), *stachysterone* A dan B dengan asam sulfat 10 % akan memberikan warna coklat kehijauan [\[31\]](#). Warna ungu juga diperoleh setelah bercak Rf 0,80 disemprot dengan pereaksi anisaldehyd asam sulfat. Warna ini mengindikasikan bahwa bercak tersebut diduga merupakan senyawa terpenoid [\[32,33\]](#). Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa yang memberikan zona hambat pada bakteri *S. aureus* adalah senyawa steroid (Rf 0,75 dan Rf 0,78), sedangkan pada bakteri *E. coli* adalah terpenoid (Rf 0,3).

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Bustanussalam dan Simanjuntak (2009) menunjukkan bahwa adanya golongan senyawa glikosida dengan aglikon berupa asam lemak pada ekstrak biji keben [\[7\]](#). Selain itu, peneliti-peneliti lainnya juga berhasil mengisolasi senyawa glikosida triterpenoid atau yang dikenal sebagai senyawa saponin dengan nama 3-O- $\{[\beta$ -D-galaktopiranosil (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glukopiranosil (1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glukuronopiranosiloksi}-22-O-[2(E)-metil-2-butenilolil-oksi]-15,16,28-trihidroksi-(3 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,22 $\alpha$ )-

**Tabel 4.** Hasil pengujian KLT-bioautografi

Sampel	Nilai Rf Noda yang Menghambat	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Fraksi Etil Asetat	0,78	
	0,75	0,30

olean-12-en dan 3-O- $\{\beta$ -D-galaktopiranosil (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glukopiranosil (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-glukuronopiranosiloksi}-22-O-(2-metilbutirol-oksi)-15,16,28-trihidroksi-(3 $\beta$ ,15 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,22 $\alpha$ )-olean-12-en [34–36]. Senyawa lain dari biji keben juga ditemukan antara lain 2,4-bis-(1,1-dimetil etil)-metilkarbamat; 4-dodesilfenol dan 2,6 bis-(1,1-dimetiletil)-4-metil-metilkarbamat [37]. Terpisahnya bercak dengan menggunakan eluen kloroform-etil asetat-metanol (5:2:2), memberikan dugaan kemungkinan senyawa terpenoid/steroid yang teridentifikasi merupakan terpenoid/steroid

yang relatif polar. Namun, untuk memastikan apakah terpenoid/steroid tersebut dalam bentuk aglikon (relatif polar) atau glikosida (saponin) perlu dikaji lebih lanjut.

Berdasarkan studi-studi yang telah dilakukan, mekanisme terpenoid sebagai antibakteri dapat dijelaskan melalui adanya gangguan terhadap keutuhan atau fungsi membran sel yang selanjutnya sel mengalami lisis, menyusut secara drastis, dan sel akan menjadi rusak [38,39]. Sifat lipofilik senyawa terpenoid dapat memberikan kemampuan dalam berinteraksi dengan membran lipid

**Tabel 5.** Identifikasi noda hasil KLT

Pereaksi Identifikasi	Rf	Warna Noda		
		Lampu UV 254 nm	Lampu UV 366 nm	Penampak Noda
Reagen H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10%	0,22	Hitam	-	-
	0,30	Hitam	Hitam	-
	0,47	Hitam	-	-
	0,78	-	Ungu	Coklat kehijauan
	0,80	Hitam	Ungu	Merah Muda
Reagen anisaldehyd-asam sulfat	0,22	Hitam	-	-
	0,30	Hitam	Hitam	Ungu
	0,47	Hitam	-	-
	0,78	-	Ungu	Abu-abu
	0,80	Hitam	Ungu	Ungu
Reagen Liebermann Burchard	0,22	Hitam	-	-
	0,30	Hitam	Hitam	-
	0,47	Hitam	-	-
	0,78	-	Ungu	-
	0,80	Hitam	Ungu	-
Reagen FeCl <sub>3</sub> 1%	0,22	Hitam	-	-
	0,30	Hitam	Hitam	-
	0,47	Hitam	-	-
	0,75	-	-	cokelat
	0,78	-	Ungu	-
	0,80	Hitam	Ungu	-

yang dapat mengubah permeabilitas dan integritas membran sel serta kapasitas osmoregulasi/fungsi struktur yang kemudian dapat menyebabkan kebocoran isi sel [40]. Senyawa terpenoid dapat menyebabkan perubahan struktur morfologi membran sel, terutama pada *E. coli* [41]. Di sisi lain, adanya gugus polar yang bersifat hidrofilik penting untuk aktivitas antibakteri dari senyawa terpenoid karena berperan dalam interaksi senyawa dengan struktur sel seperti karbohidrat dan protein [42]. Ikatan peroksida dan vinil dalam senyawa steroid diduga berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. Mekanisme efek steroid seperti sterol dapat dijelaskan dengan fakta bahwa senyawa tersebut memiliki kemiripan dengan sterol yang umumnya digunakan dalam sel. Senyawa ini diduga dapat menggantikan zat-zat tersebut dalam membran sel [43].

Disisi lain senyawa dalam bentuk saponin (glikosida terpenoid atau glikosida steroid) telah dilaporkan dapat mengikat secara efektif bakteri Gram positif tetapi tidak terhadap bakteri Gram negatif. Pengaruh senyawa saponin mirip dengan antibiotik sefalosporin, dan spekulasi mekanisme aksi dari saponin adalah berhubungan dengan kebocoran sistem membran sel bakteri. Hal ini dapat digambarkan dengan hilangnya konstituen intraseluler, dan kebocoran asam nukleat serta protein yang mengungkapkan kerusakan sel membran yang menyebabkan kematian sel sebagaimana yang telah dilaporkan [44]. Saponin memiliki sifat seperti deterjen (ada bagian polar dan bagian nonpolar dalam strukturnya) dan mungkin meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri meskipun dengan tanpa merusaknya [45].

## Kesimpulan

Ketiga fraksi uji (*n*-heksana, etil asetat, dan air) dari biji keben memiliki aktivitas antibakteri. Fraksi etil asetat adalah fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri terbesar dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*. Terpenoid dan steroid teridentifikasi sebagai golongan senyawa kimia yang diduga memberikan aktivitas antibakteri pada fraksi etil asetat.

## Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Moh. Iqbal, S.Si., M.Sc. dan Sahlan, S.Si. atas bantuan identifikasi dari tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini.

## Referensi

- [1]. Porras G, Chassagne F, Lyles JT, Marquez L, Dettweiler M, Salam AM, et al. Ethnobotany and the role of plant natural products in antibiotic drug discovery. *Chem Rev.* 2021;121(6):3495–560. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00922>
- [2]. Handayani RS, Siahaan S, Herman MJ. Resistensi antimikroba dan penerapan kebijakan pengendalian di rumah sakit di Indonesia. *J Penelit Dan Pengemb Pelayanan Kesehat.* 2017;1(2):131–40.
- [3]. Bana SWA, Khumaidi A, Pitopang R. Studi etnobotani tumbuhan obat pada masyarakat Kaili Rai di Desa Taripa Kecamatan Sindue Kabupaten Donggala Sulawesi Tengah. *Biocelbes.* 2016;10(2):68–81.
- [4]. Hasheminasab FS, Shariffar F, Hashemi SM, Setayesh M. Ethnopharmacological knowledge for management of oral mucositis in Zahedan, Southeast Iran. *Turkish J Pharm Sci.* 2021;18(2):192–203. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2020.67355>
- [5]. Ahmadian-Attari MM, Monsef Esfahani HR, Amin GR, Fazeli MR, Jamalifar H, Kamalnia G, et al. The ethnopharmacological study on antibacterial activity of some selected plants used in Iranian traditional medicine. *J Med Plants.* 2009;8(31):50–7.
- [6]. Alang H, Dinar Y. Aktivitas sediaan obat kumur ekstrak biji keben (*Barringtonia asiatica* kurz ) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *J Ilm Pena.* 2018;1(2):60–4.
- [7]. Bustanussalam B, Simanjuntak P. Uji bioaktivitas senyawa glikosida dari biji keben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz). *J Natur Indones.* 2009;12(1):9–14. <https://doi.org/10.31258/jnat.12.1.9-14>
- [8]. Umaru II. A review on the phytochemical and pharmacological properties *Barringtonia Asiatica*. *Drug Des Intellect Prop Int J.* 2018;2(3):1–10. <https://doi.org/10.32474/ddipij.2018.02.000138>
- [9]. Cannon JG, Burton RA, Wood SG, Owen NL. Naturally occurring fish poisons from plants. *J Chem Educ.* 2004;81(10):1457–61. <https://doi.org/10.1021/ed081p1457>
- [10]. Mojica ERE, Micor JRL. Bioactivity study of *Barringtonia asiatica* (Linnaeus) Kurz. seed aqueous extract in *Artemia salina*. *Int J Bot.* 2007;3(3):325–8. <https://doi.org/10.3923/ijb.2007.325.328>
- [11]. Salaki CL, Pelealu J. Pemanfaatan *Barringtonia asiatica* dan *Annona muricata* terhadap serangga vektor penyakit pada tanaman cabai. *Eugenia.* 2012;18(1). <https://doi.org/10.35791/eug.18.1.2012.4144>
- [12]. Wibawa IGKS, Suprpta DN, Khalimi K. Uji aktivitas antijamur ekstrak biji keben (*Barringtonia asiatica* ( L . ) Kurz ) terhadap *Curvularia verruculosa* penyebab penyakit bercak *curvularia* pada tanaman padi (*Oryza sativa* L . ). 2018;7(3):414–27.
- [13]. Normayunita S, Anam S, Khumaidi A. Aktivitas antibakteri fraksinasi ekstrak kulit mentah pisang ambon (*Musa paradisiaca* Var.Sapientum) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Online J Nat Sci.* 2015;4(3):300–9.
- [14]. Nugrahani AW, Maulida MF, Khumaidi A. Aktivitas antibakteri fraksi serbuk kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J Sains Farm Klin.* 2020;7(3):194. <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.3.194-201.2020>
- [15]. Nugrahani AW, Gunawan F, Khumaidi A. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kapas (*Gossypium barbadense* L.) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. 2020;9(1):52–61.
- [16]. Milah N, Bintari SH, Mustikaningtyas D. Pengaruh konsentrasi antibakteri propolis terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* secara in vitro. *Life Sci.* 2016;5(2):95–9.
- [17]. Ciura K, Dziomba S, Nowakowska J, Markuszewski MJ. Thin layer chromatography in drug discovery process. *J Chromatogr A.* 2017;1520:9–22. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.09.015>
- [18]. Abdullah SS, Djide N, Natsir S. KLT bioautografi hasil partisi ekstrak etanol herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L . ) terhadap *Shigella dysenteriae*. *Chem Prog.* 2021;14(1):14–21.
- [19]. Aslah A, Lolo WA, Jayanto I. Aktivitas antibakteri dan analisis KLT-bioautografi dari fraksi daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Pharmac.* 2019;8(2):505–15. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29320>

- [20]. Wahyuni, Ibrahim N, Nugrahani AW. Uji aktivitas antibakteri ekstrak serbuk gergaji kayu eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Biocelebes*. 2018;12(1):54–64.
- [21]. Cai L. Thin layer chromatography. *Curr Protoc Essent Lab Tech*. 2014;8(6.3):1–18. <https://doi.org/10.1002/9780470089941.et0603s08>
- [22]. Ikhsan NI, Untung M, Agung K, Astuty S, Rosidah. Pengaruh anestesi granul ekstrak biji buah keben terhadap kelangsungan hidup benih gelondongan ikan bandeng (*Chanos chanos*) pada transportasi tanpa media air. *J Perikan dan Kelaut*. 2017;VIII(1):34–41.
- [23]. Fajrian ZON, Kiromah NZW, Rahayu TP. Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan pelarut etanol dan metanol terhadap *Streptococcus mutans*. In: *The 12th University Research Colloquium 2020 STIKES Muhammadiyah Gombong*. 2020. p. 209–16.
- [24]. López-Perea P, Guzmán-Ortiz FA, Román-Gutiérrez AD, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa CA, Rodríguez-Marín ML, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of wheat bran and barley husk in the extracts with different polarity. *Int J Food Prop*. 2019;22(1):646–58. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1600543>
- [25]. Ye F, Liang Q, Li H, Zhao G. Solvent effects on phenolic content, composition, and antioxidant activity of extracts from florets of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Ind Crops Prod*. 2015;76:574–81. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.063>
- [26]. Kariznovi M, Nourozieh H, Abedi J. Experimental measurements and predictions of density, viscosity, and carbon dioxide solubility in methanol, ethanol, and 1-propanol. *J Chem Thermodyn*. 2013;57:408–15. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2012.10.002>
- [27]. Pohanka M. Toxicology and the biological role of methanol and ethanol: Current view. *Biomed Pap*. 2016;160(1):54–63. <https://doi.org/10.5507/bp.2015.023>
- [28]. Chan APL, Chan TYK. Methanol as an unlisted ingredient in supposedly alcohol-based hand rub can pose serious health risk. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(7):6–11. <https://doi.org/10.3390/ijerph15071440>
- [29]. Bridgers EN, Chinn MS, Truong V Den. Extraction of anthocyanins from industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. *Ind Crops Prod*. 2010;32(3):613–20. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.07.020>
- [30]. Ameer K, Shahbaz HM, Kwon JH. Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: a review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2017;16(2):295–315. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12253>
- [31]. Waksmondzka-Hajnos M, Sherma J, Kowalska T. Thin layer chromatography in phytochemistry. Vol. 99. 2008. 1–874 p.
- [32]. Agatonovic-Kustrin S, Kustrin E, Gegechkori V, Morton DW. High-performance thin-layer chromatography hyphenated with microchemical and biochemical derivatizations in bioactivity profiling of marine species. *Mar Drugs*. 2019;17(3):1–14. <https://doi.org/10.3390/md17030148>
- [33]. Karthika, S J, S P. TLC and HPTLC fingerprint profiles of different bioactive components from the tuber of *Solena amplexicaulis*. *J Pharmacogn Phytochem JPP*. 2014;3(1):198–206.
- [34]. Rumampuk RJ, Pongoh EJ, Tarigan P, Herlt AJ, Mander LN. A triterpene ester saponin from the seed of *Barringtonia asiatica*. *Indones J Chem*. 2003;3(3):149–55. <https://doi.org/10.22146/ijc.21880>
- [35]. Pongoh EJ, Rumampuk RJ, Tarigan P, Herlt AJ, Mander LN. Isolation of an antifeedant triterpenoid from the seed of *Barringtonia asiatica*. *Indones J Chem*. 2004;4(1):49–57. <https://doi.org/10.22146/ijc.21873>
- [36]. Herlt AJ, Mander LN, Pongoh E, Rumampuk RJ, Tarigan P. Two major saponins from seeds of *Barringtonia asiatica*: putative antifeedants toward *Epilachna* sp. larvae. *J Nat Prod*. 2002;65(2):115–20. <https://doi.org/10.1021/np000600b>
- [37]. N Tanor M, Latief Abadi A, Tri Rahardjo B, Pelealu J. Isolation and identification of triterpenoid saponin from *Barringtonia asiatica* Kurz seeds. *J Trop Life Sci*. 2014;4(2):119–22. <https://doi.org/10.11594/jtls.04.02.07>
- [38]. Sumayya SS, Lubaina AS, Murugan K. Bactericidal potentiality of purified terpenoid extracts from the selected sea weeds and its mode of action. *J Trop Life Sci*. 2020;10(3):197–205. <https://doi.org/10.11594/jtls.10.03.03>
- [39]. Guimarães AC, Meireles LM, Lemos MF, Guimarães MCC, Endringer DC, Fronza M, et al. Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules*. 2019;24(13):1–12. <https://doi.org/10.3390/molecules24132471>
- [40]. Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*. 2013;6(12):1451–74.
- [41]. Oliveira E Nogueira J, Campolina GA, Batista LR, Alves E, Caetano ARS, Brandão RM, et al. Mechanism of action of various terpenes and phenylpropanoids against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett*. 2021;368(9):1–9.
- [42]. Saad NY, Muller CD, Lobstein A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour Fragr J*. 2013;28(5):269–79.
- [43]. Dogan A, Otlu S, Çelebi özgür, Kiliç PA, Sağlam AG, Can Dogan AN, et al. An investigation of antibacterial effects of steroids. *Turkish J Vet Anim Sci*. 2017;41(2):302–5. <https://doi.org/10.3906/vet-1510-24>
- [44]. Dong S, Yang X, Zhao L, Zhang F, Hou Z, Xue P. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. *Ind Crops Prod*. 2020;149(112350):1–14. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112350>
- [45]. Arabski M, Węgierek-Ciuk A, Czerwonka G, Lankoff A, Kaca W. Effects of saponins against clinical *E. coli* strains and eukaryotic cell line. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012(286216):1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/286216>



Copyright © 2021 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)