

## Isolasi Senyawa dari Ekstrak Heksan Purwoceng (*Pimpinella alpine* Molk) dan Toksisitasnya dengan BSLT

Marini dan Meiny Suzery

Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika Undip, Semarang  
Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang 50275, Telepon (024) 7474754

---

### ABSTRAK

Tanaman Purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk) meskipun telah lama digunakan sebagai obat tradisional, namun belum banyak dilakukan eksplorasi komponen kimiawinya. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan uji toksisitas dari ekstrak heksan *Pimpinella alpine* Molk.

Metoda pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan menggunakan teknik kromatografi kolom vakum (KKV) dan analisis struktur dengan GC-MS. Uji toksisitas dilakukan menggunakan metoda BSLT (*Brine shrimp lethality Test*).

Hasil KKV diperoleh tiga fraksi (A, B dan C) dan hasil pemisahan bertahap terhadap fraksi C diperoleh cairan berwarna kuning. Hasil analisis dengan GC-MS terdapat 15 puncak dengan komponen mayor meliputi 2-tetradecena, 4-cosena, 2-cosena dan 6-tetracosena. Nilai LC 50 dari ekstrak total heksan dan fraksi A, B dan C berturut-turut sebesar 11,07 µg/mL, 198,71 µg/mL, 29005,71 µg/mL dan 18900.36 µg/mL.

Dari nilai LC 50 diketahui bahwa fraksi C bersifat tidak toksik dibandingkan dengan fraksi lainnya.

*Keywords: purwoceng, pimpinella alpina Molk, ekstrak heksan, BSLT*

---

### PENDAHULUAN

Studi kimia organik bahan alam mempunyai aspek yang luas terhadap penelitian tentang kandungan kimia dalam bahan alam hayati yang meliputi teknik isolasi, identifikasi dan aktivitasnya. Tanaman merupakan sumber senyawa kimia baru dalam bidang farmakologi, karena mengandung senyawa aktif dan atau senyawa lain yang belum bermanfaat namun dapat diubah menjadi senyawa aktif.

Salah satu tanaman dari famili Umbelliferae yang memiliki fungsi sebagai obat tradisional adalah tanaman purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk dengan nama lain *Pimpinella pruatjan*) yang dimanfaatkan sebagai penggugah nafsu seksual (Gunawan, 2000). Beberapa spesies lain dari tanaman ini yang telah dilakukan penyelidikan kimianya diantaranya *P.anisum*, *P.thellungiana*, *P.saxifraga*, *P.peregrina*, *P.major*, *P.diversifolia*, *P.tragium* dan *P.vilosa*. Kandungan kimia dari genus *pimpinella* berupa minyak atsiri (minyak anis), illungianin A dan B, germacradien dan senyawa fenilpropanoid (Aboutal, 1998; Kissiel, 1998; Qiao, 1997; Shie, 1998; Reichling, 1991 dan Santos, 1998). Pemisahan terhadap fraksi heksan dari tanaman purwoceng (*Pimpinella*

*alpina* Molk) telah berhasil dikelompokkan menjadi tiga fraksi yaitu fraksi A, B dan C. Dari Fraksi A dan B telah berhasil diisolasi senyawa stigmasterol yang dapat dikelompokkan dalam golongan steroid (Suzery, 2004). Sedangkan pemisahan komponen senyawa yang terdapat dalam fraksi C, belum dilakukan. Atas dasar permasalahan tersebut, maka pemisahan kandungan kimia yang terdapat dalam fraksi C dari ekstrak tanaman purwoceng perlu dilakukan untuk melengkapi data eksplorasi tumbuhan tersebut serta aktivitas toksisitasnya.

Pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan teknik kromatografi dan penentuan struktur ditentukan dengan GC-MS. Selain itu, uji toksisitas terhadap ekstrak heksana daraksi A, B dan C dilakukan dengan metode BSLT (*Brine shrimp lethality test*).

### METODOLOGI

#### *Bahan*

Sampel diperoleh dari desa Sikunang Pegunungan Dieng, Wonosobo, Jateng. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah pelarut yang bersifat teknis seperti metanol, heksan dan diklorometan sedangkan kualitas pa untuk eluent KLT. Silika

gel G60 sebagai fasa diam digunakan untuk kromatografi kolom.

**Alat**

Peralatan yang mendukung penelitian ini berupa seperangkat alat soklet, rotary evaporator (Buchi), GC-MS (Shimadzu), kolom kromatografi serta peralatan gelas yang biasa dipakai di laboratorium Kimia Organik.

Prosedur kerja

Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Undip. Dan analisis GC-MS dilakukan di Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA UGM.

**Ekstraksi dan fraksinasi Sampel**

Tanaman purwoceng dipotong-potong kemudian disokletasi dengan pelarut metanol dan selanjutnya terhadap ekstrak metanol dilakukan fraksinasi dengan menggunakan kromatografi kolom vakum dengan pelarut heksan. Dari fraksinasi ini diperoleh fraksi A, B dan C.

**Pemisahan dan pemurnian**

Terhadap fraksi C dilakukan analisis KLT menggunakan berbagai pelarut. Eluent terbaik hasil KLT ini menjadi dasar pemisahan selanjutnya. Pemisahan dilanjutkan dengan kromatografi kolom vakum.

**Analisis senyawa**

Identifikasi senyawa hasil pemisahan dilakukan dengan menggunakan instrumen GC-MS.

**Uji toksisitas Fraksi A, B dan C**

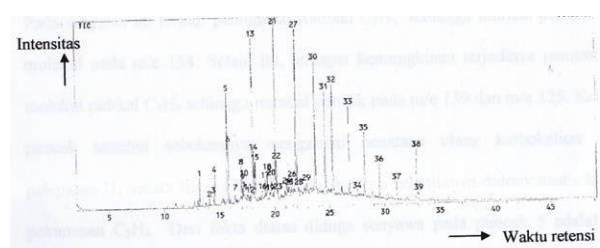
Uji toksisitas digunakan metode BSLT dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach (Meyer, 1982; McLaughlin,1991). Perlakuan uji toksitas dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing- masing fraksi A, B dan C. Penyiapan larva *Artemia salina* Leach dengan menetasakan telur *Artemia salina* Leach 48 jam sebelum dilakukan uji. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut didalam wadah yang diberi suplai oksigen dan diberi penerangan dengan lampu. Dari masing-masing sampel yang diperoleh kemudian dibuat larutan induk yaitu dengan cara mencampurkan 0,5 gram ekstrak Fraksi A, B dan C ditambah air laut sampai volume 50 mL dengan labu takar.

Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing- masing 5mL kemudian dimasukkan ke dalam botol vial. Larutan dipindahkan dalam labu ukur 50mL, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 50 mL, larutan dibuat dengan konsentrasi 1000, 100, 10 ppm.

Kontrol dibuat dengan 10mL air laut kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang. Dihitung dan ditentukan prosentase kematian. Analisis data dilakukan untuk mencari LC50 dengan analisis probit.

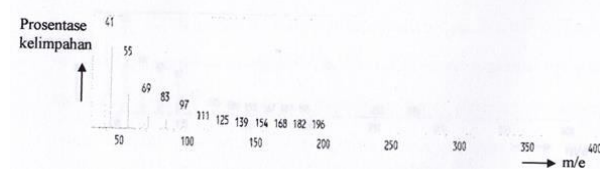
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil analisis terhadap fraksi C berbentuk minyak yang berwarna kuning dengan GC-MS diperoleh 15 puncak seperti tersaji pada gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Kromatogram fraksi C dengan HPLC

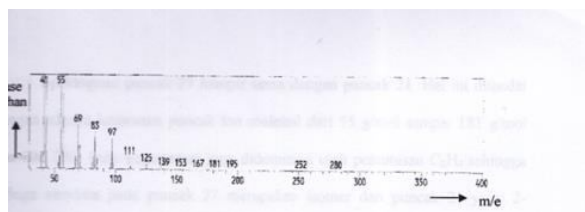
Dari 15 puncak diambil 4 puncak dengan luas area yang tertinggi untuk diinterpretasikan yaitu puncak 5, 21, 27 dan puncak 30, sedangkan puncak 13 tidak diinterpretasikan karena kemiripan pola dengan data base kecil. Pemilihan ke empat puncak didasarkan pada intensitas yang paling tinggi. Spektrogram senyawa pada puncak 5 dengan waktu retensi 15,7 dan memiliki puncak dasar pada m/e 41 disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Spektrogram puncak 5

Fragmentasi pada m/e 41, 55, 69, 83, 97, 111, 125 merupakan pola pragmentasi khas untuk senyawa alkena. Dari pola yang diberikan dan dibandingkan dengan data base maka pada waktu retensi 15,7 merupakan senyawa 2-tetradecena.

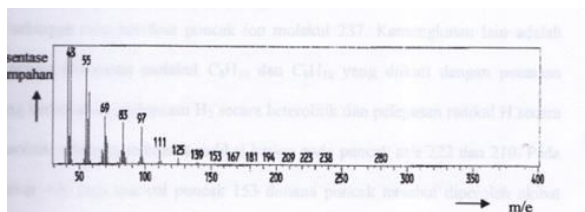
Spektrogram senyawa puncak 21 menunjukkan puncak dasar pada m/e 41 dengan waktu retensi 20,13 disajikan dalam gambar 3.



**Gambar 3.** Spektrogram puncak 21 dengan GC-MS

Data spektrogram di atas menunjukkan pola yang sama dengan senyawa-senyawa alkena. Fragmentasi yang diawali dengan pemutusan  $C_2H_4$  dengan BM 28 menghasilkan puncak ion molekul 252. Adanya pelepasan radikal  $C_6H_{13}$  dengan BM 85 menghasilkan puncak ion molekul 195. Fragmentasi selanjutnya didominasi pemutusan molekul  $C_2H_4$  hingga mencapai puncak dasar m/e 41. Dari perkiraan di atas diduga senyawanya adalah 4-cosena.

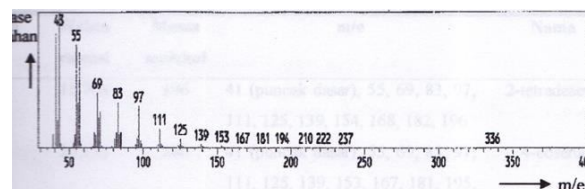
Spektrogram senyawa puncak 27 menunjukkan puncak dasar pada m/e 43 dengan waktu retensi 22,02 disajikan dalam gambar 4.



**Gambar 4.** Spektrogram puncak 27 dengan GC-MS

Spektrogram puncak 27 hampir sama dengan puncak 21. Hal ini ditandai dengan adanya puncak ion molekul pada m/e 55 sampai 181 dan BM 280. Pola fragmentasi didominasi oleh pemutusan  $C_2H_4$

sehingga diduga senyawa pada puncak 27 merupakan isomer dari puncak 21 yaitu 2-cosena. Spektrogram senyawa puncak 30 dengan waktu retensi 23,73 disajikan dalam gambar 5.



**Gambar 5.** Spektrogram puncak 30 dengan GC-MS

Puncak 30 ini ditandai dengan berat molekul yang tinggi pada m/e 336. Fragmentasi terjadi akibat adanya pelepasan molekul radikal  $C_7H_{14}$  sehingga menghasilkan puncak ion molekul 237. Kemungkinan lain adalah terjadinya pelepasan molekul  $C_8H_{16}$  dan  $C_9H_{18}$  yang diikuti dengan penataan ulang karbokation, pelepasan  $H_2$ , secara heterolitik dan pelepasan radikal H secara homolitik sehingga terbentuk radikal kation pada puncak m/e 222 dan 210. Dari pemutusan tersebut kemudian pemecahan molekul  $C_6H_{12}$  sehingga diperoleh puncak dasar sebesar 43. Dari fakta di atas diduga senyawa pada puncak ini adalah 6-tetracosena.

Dari data di atas mulai dari puncak 5, 21, 27, dan 30 menunjukkan senyawa yang terdeteksi berupa alkena rantai panjang. Sehingga dari analisis tersebut diketahui bahwa senyawa ekstrak heksan dari fraksi C tanaman purwoceng (*Pimpinella alpine* Molck) berbeda dengan spesies lain. Akan tetapi tidak menutup kemungkinan adanya kesamaan senyawa minor yang hingga saat ini belum dapat diusulkan strukturnya.

### Hasil uji toksisitas fraksi A, B dan C

Uji toksisitas yang dilakukan terhadap larva udang *Artemia salina* terhadap masing-masing ekstrak heksan. Fraksi A, B dan C diperoleh data kematian larva udang (tabel 1).

**Tabel 1.** Hasil pengamatan kematian larva udang *Artemia salina* Leach

Sampel	Konsentrasi	Larva udang	Larva yang mati		
			Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
Ekstrak heksan	1000	10	10	10	10
	100	10	9	9	9
	10	10	5	5	6

Fraksi A	1000	10	9	8	10
	100	10	2	2	2
	10	10	1	1	1
Fraksi B	1000	10	3	3	2
	100	10	2	2	1
	10	10	0	0	1
Fraksi C	1000	10	3	3	3
	100	10	2	1	1
	10	10	1	1	0

Data yang diperoleh diatas kemudian diolah dengan menggunakan Finney method untuk menentukan LC50. Dari harga LC50 tersebut diketahui toksisitas dari masing-masing fraksi. Hasil analisis data terlihat dalam Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil analisis data dengan Finney method

No	Sampel	Nilai LC50 (µg/ml)
1	Ekstrak heksan	11,07
2	Fraksi A	198,71
3	Fraksi B	29005,71
4	Fraksi C	18900,36

Berdasarkan harga LC50 diatas diketahui bahwa ekstrak heksan dengan nilai LC50 sebesar 11,07 µg/mL bersifat sitotoksik, sedangkan fraksi A dengan harga LC50 sebesar 198,71 µg/mL dan memiliki potensi sebagai obat. Fraksi B dan C dengan harga LC50 sebesar 29005,71 µg/mL dan 18900,36 µg/mL tidak bersifat toksik karena memiliki harga LC50 diatas 1000 µg/mL (Meyer, 1982). Dari data diatas, maka nilai LC50 masing-masing fraksi memperlihatkan nilai yang berbeda-beda, hal ini disebabkan oleh adanya senyawa yang berbeda beda yang terkandung dalam ekstrak tersebut.

### KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap Fraksi C dapat disimpulkan bahwa terdapat 15 puncak dengan komponen mayor meliputi 2-tetradecena, 4-cosena, 2-cosena dan 6-tetracosena. Dari nilai LC 50 diketahui bahwa fraksi C bersifat tidak toksik dibandingkan dengan fraksi lainnya.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Aboutal, EA., El-Azzouny, AA., and Afifi MS., 1998, *Phytochemistry*, 49 (3), p. 455
- [2] Gunawan, D., 2000, *Ramuan Tradisional untuk Keharmonisan Suami Istri*, cetakan 2, Penebar Swadaya, Jakarta, 52-56
- [3] Kissiel, W., Janeczko Z., and Zgud-Walaszek M., 1998, *Phytochemistry* 49 (7)
- [4] Macias, J.M., Vicente, M., Manuel, G., dan Karl-Heinz, K., 1994, *Phenylpropanoid from Pimpinella villosa*, *Phytochemistry*, 37 (2), 539-542
- [5] McLaughlin, JL., and Chang, DL., 1991, *Bench top Bioassay for the discovery of Biocative Natural Product: An update the Unseco Regional workshop on bioassay of Natural Product with special emphasis on anticancer agents*, University of Malaysia, Kuala Lumpur, pp 1-3.
- [6] Meyer, BN., Ferigni, NR., Putman, JE., Ja Cobsen, LB., Nicols, DE., and Mclaughlin, JL., 1982, *Brone shrimp, A Conventient General Bioassay for active Plant Constituent*, *Planta Medika*, 45, 31-34.
- [7] Qiao, BJ., Wang, CD., and Mi CF., 1997, *Yaou Xue Xue Bao*, 2 (1), p.56.
- [8] Reichiling J., Merkel B., and Hofmeister Pete, 1991, *Studies on Biological Actives of Rare phenylpropanoid ogf genus pimpinella*, *Journal Natural Products*, 54, 1416-1417.
- [9] Santos PM., Fiquerido and Chistina A., 1998, *Essential oils from hairy roots culture and from fruits and roots of*

- Pimpinella anisum, *Journal Phytochemistry*, 48, p.455-460.
- [10] Shie H., Li F., Mi C., Qiao B and Wang C, 1998, *Zhongguo Zhong Yao Zhi* 1998
- [11] Suzery M., Ngadiwiyono, Nurhasnawati E., Cahyono B., Senyawa Stigmasterol dari *Pimpinella alpina* Molk, *Media Medika Indonesiana, Suppl.*, 2004: 29(1), pp. 37-39
- [12] Suzery M., 2004, Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian MIPA, Extraction of Essential oils from purwoceng (*Pimpinella alpina* Molk) using vacuum distillation, pp. 229-231.