

Isolasi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan metode purifikasi dan kristalisasi (Warditiani, N.K., Widjaja, I.N.K., Noviyanti, N. W. R.,)

Isolasi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan Metode Purifikasi dan Kristalisasi

Warditiani, N.K.¹, Widjaja, I.N.K.,¹Noviyanti, N. W. R.¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Ni Wayan Restika Noviyanti
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana
Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837
Email : restika.noviyanti@gmail.com

ABSTRAK

Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness) merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan. Zat aktif utama dalam sambiloto adalah andrografolid yang merupakan zat pahit pada tanaman tersebut. Isolat andrografolid telah terbukti memiliki berbagai macam aktivitas farmakologi seperti antihiperqlikemia menghambat *platelet-activating factor*), anti virus herpes simplex tipe 1, menghambat viabilitas TD-47 sel kanker payudara, dan menurunkan kadar kolesterol. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa andrografolid menunjukkan aktivitas sebagai anti inflamasi dalam kasus rheumatoid arthritis. Beberapa macam tahapan isolasi telah dilakukan untuk memperoleh andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness pada penelitian-penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini dilakukan isolasi terhadap andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan metode purifikasi dan kristalisasi yang bertujuan untuk mendapatkan isolat andrografolid murni dengan lebih efisien.

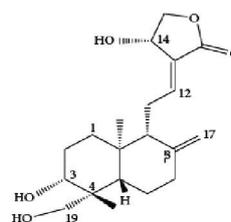
Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh menggunakan metoda purifikasi dan kristalisasi mendapatkan rendemen sebesar 0,48%.

Kata kunci : andrografolid, *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness, purifikasi, kristalisasi

1. PENDAHULUAN

Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness) merupakan tanaman menahun, dengan tinggi mencapai 1-3 kaki (Akbar, 2011). *Andrographis paniculata* termasuk salah satu tanaman yang paling sering digunakan dalam sistem tradisional Unani dan obat-obatan Ayurveda (Akbar, 2011). Semua bagian tanaman *Andrographis paniculata*, seperti daun, batang, bunga, dan akar, memiliki rasa sangat pahit. Bagian tanaman yang sering digunakan dalam pengobatan adalah seluruh bagian tanaman di atas tanah (herba). Secara umum *Andrographis paniculata* mengandung diterpen lakton, dan flavonoid (Akbar, 2011). Kandungan flavonoidnya terutama terdapat pada bagian akar, namun dapat pula diisolasi dari daun.

Selain itu, herba ini juga mengandung alkana, keton, dan aldehida. Andrografolid merupakan diterpenoid lakton, berupa kristal bening dan mempunyai rasa yang sangat pahit (Chao dan Lin, 2010) dengan rumus molekul andrografolid $C_{20}H_{30}O_5$.



Gambar 1. Struktur kimia andrografolid (Depkes RI, 2008)

Isolasi Andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan metode purifikasi dan kristalisasi (Warditiani, N.K., Widjaja, I.N.K., Noviyanti, N. W. R.,)

Andrografolid memiliki sifat yang mudah larut dalam metanol, etanol, piridin, asam asetat dan aseton, tapi sedikit larut dalam eter dan air. Andrografolid menunjukkan beberapa aktivitas farmakologi seperti menghambat *platelet-activating factor* (Amroyan et al, 1999), anti virus herpes simplex tipe 1 (Wiarth et al, 2005), menghambat viabilitas TD-47 sel kanker payudara manusia secara *in vitro* (Sukardiman dkk, 2007), menurunkan kadar kolesterol (Nugroho et al, 2012). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa andrografolid menunjukkan aktivitas sebagai anti inflamasi dalam kasus rheumatoid arthritis (Hidalgo, 2013).

Beberapa tahapan isolasi telah dilakukan pada penelitian-penelitian sebelumnya untuk memperoleh isolat andrografolid seperti ekstraksi cair- cair (Nugroho et al, 2012) , SPE *modification* (Sukarsiman et al, 2007) dan kromatografi kolom lambat (Nugroho et al., 2012). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat andrografolid dari *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan metode purifikasi dan kristalisasi.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah standar baku andrografolid, herba sambiloto yang diperoleh dari Kulonprogo-Yogyakarta, etanol 90%, etanol 70%, *n*-heksan, etil asetat, aquadest, metanol p.a, *n*-heksa p.a.

2.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat maserasi, kertas saring, batang pengaduk, , rotaevaporator 1 L *Eyela*, cawan penguap 150 ml, plat silika GF254.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Ekstraksi

Serbuk *Andrographis paniculata* dimaserasi dengan etanol 90% (1:5). Selanjutnya diremaserasi sebanyak 2 kali. Maserat yang diperoleh diuapkan sampai kental.

2.3.2. Purifikasi

Ekstrak kental yang diperoleh dicuci secara berturut- turut menggunakan *n*-heksan, etil asetat dan air panas hingga pelarut-pelarut tersebut menjadi bening. Ekstrak diuapkan kembali sampai kental kemudian ditambahkan etanol 70% secukupnya.

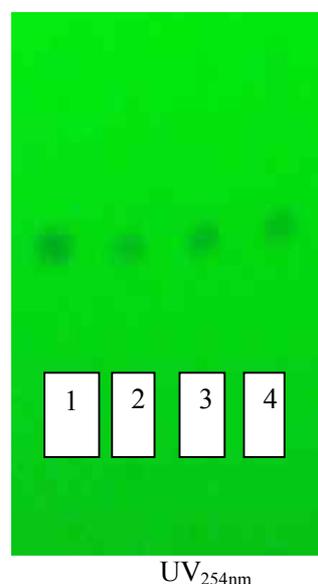
2.3.3. Isolasi

Ekstrak terpurifikasi kental dilarutkan dengan metanol sedikit demi sedikit kemudian dipanaskan pada suhu 78⁰C sampai larut. Larutan disaring panas-panas dan filtrat didinginkan perlahan. Kristal yang terbentuk dipisahkan dan dicuci dengan *n*-hexan dan etil asetat hingga bening (Nugroho et al., 2012). Kristal yang terbentuk dilarutkan dengan menggunakan metanol kemudian dipanaskan hingga larut. Larutan disaring panas dan filtrat yang terbentuk direkristalisasi hingga diperoleh kristal andrografolid murni.

3. HASIL

Dari hasil purifikasi, diperoleh ekstrak sebanyak 32,22 g. Ekstrak terpurifikasi ini telah dihilangkan klorofil dan komponen-komponen pengotor lainnya sehingga hanya menunjukkan 1 spot pada plat KLT menggunakan UV₂₅₄.

Gambar 2. KLT hasil purifikasi ekstrak pada



Keterangan: Standar baku andrografolid = 1
Sampel isolat andrografolid = 2,3,4

Pada tahap kristalisasi dan rekrystalisasi, diperoleh isolat andrografolid dengan warna putih susu, berbentuk kristal besar sebanyak 4,83 g dengan rendemen sebesar 0,48 %.



Gambar 3. Kristal andrografolid hasil isolasi

4. PEMBAHASAN

Hasil maserasi yang diperoleh dikentalkan kemudian dipurifikasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air panas. Penambahan *n*-heksan bertujuan untuk menarik lemak dan klorofil yang terdapat di dalam ekstrak yang bersifat non polar. Etil asetat berfungsi untuk menarik pengotor-pengotor lain yang masih terdapat di dalam ekstrak yang bersifat lebih polar dari klorofil dan tidak terlarut dalam *n*-heksan sedangkan air panas digunakan untuk menghilangkan pengotor yang bersifat sangat polar dalam ekstrak tersebut. Ekstrak diuapkan kembali sampai kental kemudian ditambahkan etanol 70% secukupnya yang bertujuan untuk mencegah terjadinya pertumbuhan mikroba pada ekstrak. Dengan mengentalkan terlebih dahulu ekstrak sebelum dipurifikasi dapat mengurangi jumlah pelarut yang digunakan untuk menghilangkan komponen-komponen pengotor yang dapat mengganggu isolasi dibandingkan dengan menggunakan ekstraksi cair-cair. Selain itu, metode ini juga dianggap lebih murah dan efisien karena tidak memerlukan bahan lainnya seperti silika gel seperti dalam penggunaan kromatografi kolom lambat. Tahapan dilanjutkan

dengan proses isolasi dengan metode kristalisasi-rekrystalisasi menggunakan pelarut metanol. Digunakan pelarut methanol p.a karena andrografolid larut dalam metanol, sehingga lebih sedikit volume yang dibutuhkan untuk menjenuhkan andrografolid (Wongkittipong *et al.*, 2000). Selain itu berdasarkan prinsip rekrystalisasi, andrografolid larut dalam metanol pada suhu panas tetapi pada suhu rendah akan mengendap membentuk kristal kembali. Ekstrak terpurifikasi ditambahkan metanol sedikit demi sedikit kemudian dipanaskan hingga larut. Kondisi lewat jenuh diperlukan untuk mempermudah pembentukan kristal setelah dilakukan proses pendinginan. Larutan disaring panas-panas kemudian didinginkan secara perlahan untuk mendapatkan bentuk kristal yang besar karena jika penurunan suhu berjalan dengan cepat maka kecepatan tumbuh inti kristal lebih cepat daripada kecepatan pertumbuhan kristal sehingga kristal yang diperoleh kecil, rapuh, amorf (Dalrymple *et al.*, 1986).

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi 1kg *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness menggunakan metoda purifikasi dan kristalisasi, diperoleh bobot andrografolid sebanyak 4,83 g dengan rendemen sebesar 0,48%.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, S. 2011. *Andrographis paniculata*: A Review of Pharmacological Activities and Clinical Effects. *Alternative Medicine Review*. Vol: 16(1). P.66-77.
- Amroyan, E., *et al.* 1999. Inhibitory effect of andrographolide from *Andrographis paniculata* on PAF-induced platelet aggregation. *Phytomedicine*. Vol: 6. P.27-31.
- Chao, W. dan B. Lin. 2010. Isolation and Identification of Bioactive Compounds in *Andrographis paniculata*. *Chinese Medicine*, Vol. 5(17). P.1-15.
- Dalrymple, B. J., S. Mroczkowski, and D. E. Prober. 1986. Vapor Transport crystal Growth of the Transition Metal

- Dichlorogenide Compounds. *Journal of Crystal Growth*. Vol: 74. P. 575-580.
- Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. P.126-127.
- Hidalgo, M. A., J. L. Hancke J. C. Bertoglio, and R. A. Burgos. 2013. *Andrographolide a New Potential Drug for the Long Term Treatment of Rheumatoid Arthritis Disease* (serial online). (Cited by 2014, february 27). Available from URL: <http://dx.doi.org/10.5772/55642>.
- Nugroho, A.E., M. Andrie, K. Warditiani, E. Siswanto, S. Pramono dan E. Lukitaningsih. 2012. Antidiabetic and Antihiperlipidemic Effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Andrographolide in High-fructosa-fat-fed Rats. *Indian Journal Pharmacol*, Vol. 44(3).P.377-381.
- Sukardiman, H., A. Widyawaruyanti, Sismindari, and N. C. Zaini. 2007. Apoptosis inducing effect of andrographolide on td-47 human breast cancer cell line. *Afr. J. Trad. Cam* . Vol:4(3). P.345 – 351.
- Wiat, C., K. Kumar, M. Y. Yusof, H.Hamimah, Z. M. Fauzi, and M. Sulaiman. 2005. Antiviral Properties Of Ent-Labdane Diterpenes Of *Andrographis Paniculata* Ness, Inhibitors Of Herpes Simplex Virus Type 1. *Phytothes. Res*. Vol: 19. P.1069-1070.
- Wongkittipong, R., L. Prat, S. Damronglerd dan C. Gourdon. 2000. Solid-liquid Extraction of Andrographolide from Plants-Experimental Study, Kinetic Reaction and Model. *Separation and Purification Technology*, Vol. 40. P.147-154