ANALISIS ARTEMISININ PADA TANAMAN *Artemisia sacrorum*, Ledeb DENGAN METODE KROMATOGRAFI

Purwantiningsih Sugita[1,2]
[2]Jurusan Kimia FMIPA-IPB

ABSTRACT

Artemisinin, a potent antimalarial sesquiterpene endoperoxide. From the leave parts of the medicinal plant *Artemisia sacrorum*, Ledeb were investigated artemisinin by chromatography. The result were compared with standard artemisinin.

Kata kunci: *Artemisinin, Artemisia sacrorum*

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit infeksi yang sampai kini masih menjadi masalah kesehatan yang paling serius dan kompleks yang dihadapi umat manusia pada abad ini. Hasil konferensi malaria di Hyderabad India bulan Agustus 1997 mengungkapkan bahwa setiap tahun 3 juta orang meninggal akibat malaria atau dapat dikatakan tiap 12 detik satu orang meninggal dan 1/3 nya adalah anak-anak. Malaria lebih mematikan daripada AIDS, karena malaria mampu membunuh dalam waktu 40 jam saja. Salah satu wilayah endemik malaria terbesar di Indonesia adalah Irian jaya. Masalah pengobatan malaria sampai kini belum tuntas karena meluasnya populasi parasit plasmodium yang kebal terhadap obat-obat antimalaria kuinin dan turunannya seperti klorokuin, sulfadoksin, primetamin, kina, amodiakuin, meflokuin, dan halofantrin (Tjitra, 1991). Oleh karena itu kebutuhan akan obat antimalaria baru merupakan hal yang sangat penting.

Obat antimalaria yang masih dalam pengembangan penelitian sekarang adalah artemisinin, zat aktif yang diisolasi dari tanaman *Artemisia annua* oleh peneliti Cina pada tahun 1972. Hasil uji *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa aktivitas artemisinin sangat tinggi, bahkan terhadap strain plasmodium yang telah kebal sekalipun dengan obat antimalaria kuinin dan turunannya. Artemisinin juga telah dicobakan kepada pasien penderita malaria di Cina dan hasilnya sangat efektif dalam menekan pertumbuhan plasmodium dibandingkan obat antimalaria klorokuin.

Di Indonesia, obat ini belum pernah dicoba, padahal tanaman *A.annua* penghasil zat aktif artemisinin tersebut tumbuh subur di daerah Wamena Irian Jaya. Selain Wamena. PT Eisei, Sukabumi juga membudidayakan tanaman Artemisia hanya saja spesiesnya *A. sacrorum*, Ledeb. Di Indonesia Tanaman Artemisia ini belum disentuh secara ilmiah, padahal tanaman ini cukup prospektif, apalagi situasi negara yang sedang dilanda krisis moneter. Pengobatan dengan menggunakan tanaman tradisional merupakan suatu langkah yang saat ini sedang digalakkan.

Sampai sekarang, *A. annua* masih merupakan satu-satunya sumber bahan baku artemisinin, karena dari skrining 30 spesies tanaman Artemisia (tidak disebutkan jenis spesiesnya) yang tumbuh di Cina selain *A. annua* tak satupun yang mengandung artemisinin. Peneliti yang tergabung dalam tim Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) telah menskrining 70 spesies Artemisia (tidak disebutkan jenis spesiesnya) yang tumbuh di Washington DC dan India, tak satupun spesies yang mengandung artemisinin kecuali *A. annua*. Sedangkan peneliti Amerika menskrining *A. ludoviciana, A. vulgaris, A. Schimidtiana, A. pontica, A. arbuscula, A. absinthium* dan *A. dracunculus* dan tak satupun spesies yang mengandung artemisinin. Neill et.al. (1987) juga tak menemukan artemisinin dalam *A. vulgaris* yang tumbuh di Bel Air Park,

[1] Yang dihubungi untuk korespondensi, Telp. 62-251-322196

Dulwich. Sementara itu, Liersh berhasil mengisolasi artemisinin dari *A. apiaceae* yang tumbuh di Jepang dan Luo et.al juga menemukan artemisinin dalam *A. Lanceae* (Klayman, 1993).

Di Indonesia selain A. annua, spesies Artemisia lain yang tumbuh adalah A. vulgaris, A. cina, Berg dan A. sacrorum, Ledeb. Kajian Kepustakaan *A. sacrorum* berkaitan dengan artemisinin belum pernah diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini sangatlah penting sebagai langkah awal untuk mengembangkan bahan obat, khususnya antimalaria. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi adanya artemisinin dalam tanaman *A. sacrorum* dengan metode kromatografi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Tanaman *A. sacrorum* Ledeb. diperoleh dari P.T. Eisei, Sukabumi. Determinasi contoh dilakukan di Herbarium Bogoriense, Bogor. Sebagai standar digunakan artemisinin produksi Latoxan, Perancis. Bahan kimia lainnya adalah diklorometana, toluena, NaOH 0,2%, asam asetat 0,05 M, buffer fosfat 0,01 M (pH 7). Sedangkan alat yang digunakan adalah rotavapor, penangas air, desikator vakum, *Ultrasonic Homogenizer*, instrumen KCKT merk Hitachi L-370, kromatografi gas merk Hitachi 263-50, spektrofotometer UV merk Shimadzu, dan alat-alat gelas lainnya.

Persiapan Contoh

Bagian daun dari tanaman *Artemisia sacrorum* dikering udarakan hingga kandungan airnya kurang dari 10%. Sampel daun kering digiling sampai menjadi serbuk berukuran 35-60 mesh.

Pengujian adanya artemisinin

Pengujian adanya artemisinin dilakukan dengan dua metode kromatografi yaitu Kromatografi Cair Kinerja Tingga (KCKT) detektor UV dan Kromatografi Gas (KG).

Metode KCKT – detektor UV

Pada metode ini artemisinin diukur dalam bentuk senyawa turunannya, Q260 setelah melalui reaksi hidrolisis basa dan asam. Langkah kerjanya adalah sebagai berikut: Serbuk daun *A. sacrorum* sebanyak 250 mg dilarutkan dalam 10 ml toluena, diekstraksi dengan *Ultrasonic Homogenizer* selama 30 menit. Filtratnya disaring dan diambil 500 μl untuk dikeringkan dengan desikator vakum hingga bebas pelarut. Residu yang didapat dilarutkan dalam 200 μl metanol, dilanjutkan dengan penambahan 800 μl larutan NaOH 0,2%. Campuran tersebut dikocok, lalu dipanaskan selama 30 menit dalam penangas air bersuhu 50°C. Campuran didinginkan, kemudian ditambah 200 μl metanol dan 800 μl asam asetat 0,05 M. Hasil preparasi ini siap diinjeksikan pada instrumen KCKT dengan kondisi alat sebagai berikut: kolom C_{18} Mikro Bondapag (150 x 3,9 mm); suhu kolom suhu ruang; fase gerak buffer fosfat (pH 7) : MeOH (55:45); laju alir 1 ml/menit; volume injeksi 10 μl dan detektor UV. Sebelumnya, hasil preparasi ini juga dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer UV-VIS. (Zao et.al., 1985 dalam Woerdenbag *et al.*, 1994).

Metode Kromatografi gas

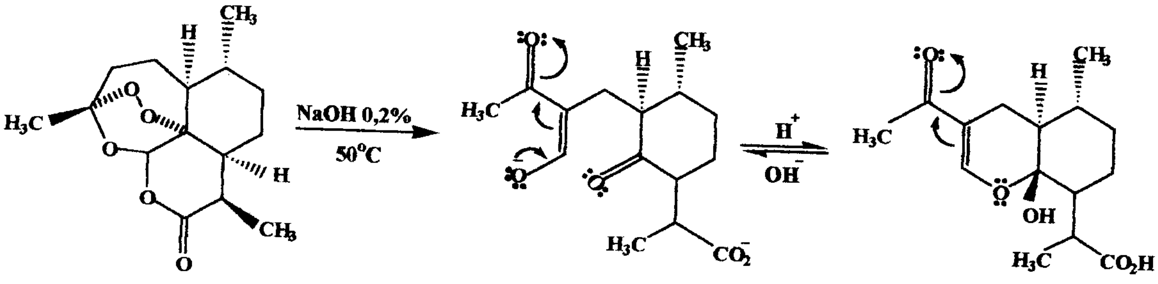
Sebanyak 1.0 gram serbuk daun *A. sacrorum* dilarutkan dalam 10 mL kloroform dan diekstraksi dengan *Ultrasonic Homogenizer* selama 30 menit. Filtratnya disaring dan siap diinjeksikan pada instrumen GC dengan kondisi alat sebagai berikut: kolom OV-17 silicone; gas pembawa N_2 dengan laju alir 0.5 kgf/cm^2; laju pompa gas H_2 2.25 kgf/cm^2; laju udara 0.5 kgf/cm^2; suhu injeksi 150°C; suhu kolom 100-180°C; volume injeksi 2 μL dan detektor FID.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi contoh menunjukkan bahwa *Artemisia sp.* yang dikoleksi oleh P.T. Eisai, Sukabumi merupakan *Artemisia sacrorum* Ledeb. Identifikasi adanya arte-misinin dalam tumbuhan ini dibandingkan dengan zat artemisinin standar. Analisis artemisin sulit, karena senyawa ini tidak stabil, konsentrasinya dalam tanaman sangat rendah, keutuhan molekulnya kurang baik dan adanya senyawa lain mengakibatkan saling interaksi dalam pendeteksiannya. (Geldre, 1994).

Tabel 1. **Data Kromatogram hasil analisis KCKT-detektor UV artemisinin standar dan ekstrak daun *A. sacrorum***

Artemisinin standar		Ekstrak daun *A. sacrorum*		
t_R (menit)	luas puncak	t_R (menit)	luas puncak	kadar (%b/b) *
3,07	145275	2,96	273737	0,47



Artemisinin Q292 Q260

Gambar 1. Reaksi modifikasi artemisinin dalam suasana basa dan asam

Kurangnya kromofor pada artemisinin menyebabkan senyawa ini hanya menunjukkan serapan UV pada $\lambda \leq 220$ nm, sehingga analisis senyawa ini dengan KLT tidak akurat. Pendeteksian artemisinin secara langsung kurang spesifik karena adanya tumpang tindih dengan senyawa lain yang juga menunjukkan serapan pada daerah ≤ 220 nm. Oleh karena itu pada penelitian ini dipilih metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan detektor UV dan Kromatografi Gas (KG). Oleh karena pada analisis ini digunakan detektor UV, maka diperlukan modifikasi kimia terhadap contoh sebelum dianalisis. Modifikasi ini dimaksudkan untuk meningkatkan keberadaan kromofor pada struktur artemisinin sehingga senyawa dapat terdeteksi oleh detektor UV. Reaksi perubahan artemisinin menjadi Q260 ditampilkan pada Gambar 1.

Modifikasi dilakukan dengan perlakuan basa dan asam. Hidrolisis basa dengan NaOH 0,2% menghasilkan turunan Q292. Selan-jutnya perlakuan Q292 dengan asam asetat 0,05M menghasilkan Q260. Pengubahan Q292 menjadi Q260 dilakukan karena banyak senyawa selain turunan artemisinin yang juga mempunyai serapan pada daerah sekitar 292 nm, sehingga dapat mengaburkan serapan turunan artemisinin (Woerdenbag *et al.* 1994).

Hasil kromatogram KCKT standar artemisinin dan ekstrak daun (Tabel 1) terlihat pita elusi dengan waktu retensi masing-masing 3,07 menit dan 2,96 menit. Puncak tersebut diidentifikasi sebagai puncak turunan artemisinin (Q260).

Analisis UV dilakukan untuk melihat pola pengubahan artemisinin menjadi turunan Q260 setelah hidrolisis basa dan asam. Artemisinin standar mempunyai pita serapan tunggal pada daerah 204 nm, sedangkan ekstrak daun *A. sacrorum* menyerap pada 222 (maksimum), 270, dan 336 nm. Modifikasi contoh menghasilkan peningkatan serapan pada daerah 270 nm. Peningkatan serapan tersebut membuktikan adanya perubahan struktur dengan putusnya ikatan peroksida dan ikatan lainnya (Gambar 2.) sehingga mengakibatkan terjadinya geseran merah (bathokromik). Modifikasi struktur artemi-sinin menghasilkan turunan (Q260 dan Q292) dan senyawa ini memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Williams & Fleming (1995) menyatakan bahwa konjugasi akan menghasilkan geseran bathokromik disertai peningkatan intensitas pita serapan pada panjang gelombang yang lebih tinggi.

Pada kromatografi gas, bila suatu kolom dengan semua variabelnya dikendalikan secara seksama, maka waktu retensi (t_R) akan merupakan sifat khas dari suatu zat terlarut. Ini menyiratkan bahwa waktu retensi dapat digunakan untuk mengi-dentifikasi senyawa (Shugar & Ballinger, 1990).

Analisis dilakukan terhadap kloroform sebagai pelarut, artemisinin standar, ekstrak daun *A. sacrorum*, dan standar internal [1:1]. Analisis kualitatif dengan metode KG ini dilakukan untuk mempertegas hasil analisis KCKT.

Pada kromatogram pelarut terlihat dua pita elusi (t_R 9,66 dan 17,34 menit), sedangkan pada artemisinin standar muncul tiga pita elusi (t_R 9,76; 17,34; dan 21,68 menit). Puncak ketiga diduga merupakan puncak artemisinin. Artemisinin tidak stabil terhadap termal menurut Lin *et al.* (dalam Geldre *et al.*, 1997). Pada suhu kolom 100-180 °C, artemisinin diduga telah terdekomposisi. Oleh karena itu senyawa yang terdeteksi pada kromatogram KG diduga bukanlah artemisinin, melainkan produk dekomposisi termalnya.

Ekstrak daun *A. sacrorum* menghasilkan kromatogram dengan tiga pita elusi (t_R 9,96; 17,44; dan 21,66 menit). Puncak ke-3 diduga merupakan artemisinin (t_R std 21,68 menit). Adanya peningkatan luas puncak dari puncak ke-3 (t_R 21,80) pada kromatogram standar internal, yaitu dari 72212 menjadi 154780 memperkuat dugaan bahwa puncak tersebut adalah artemisinin.

KESIMPULAN

Adanya artemisinin dalam *A. sacrorum* Ledeb. merupakan penemuan baru karena selama ini hanya *A. annua* yang secara serius digali potensinya sebagai sumber artemisinin.

Hasil identifikasi artemisinin dengan metode KCKT-detektor UV menunjukkan bahwa daun *A. sacrorum* Ledeb me-ngandung artemisinin (t_R: std 3,07 menit; sampel 2,96 menit). Keberadaan artemisinin didukung oleh hasil analisis KG (t_R: std 21,68 menit; sampel 21,66 menit; std internal 21,80 menit).

Penelitian ini sedang dilanjutkan ke tahap isolasi untuk menentukan kandungan artemisinin dalam tanaman tersbut.

DAFTAR PUSTAKA

Akhila, A., R. S. Thakur & S. P. Popli. 1987. Biosynthesis of artemisinin in *Artemisia annua*. *Phytochemistry* **26**(7): 1927-1930.

Casteel, D. A. 1997. Antimalarial agents. Di dalam M.E. Wolff (penyunting). *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*. Ed. ke-5, Bab 59, Vol. 5. John Wiley & Sons, New York.

Geldre, E. Van, A. Vergauwe & E. Van den Eechout. 1997. State of art of the production of antimalarial compound artemisinin in plants. *Planta Molecular*

Huang, Y. P. & Ling Y. R. 1996. Economic Compositae in China, vol. 2, hlm. 431-451. Di dalam P.D.S Caligari & D.J.N. Hind (Penyunting). *Compositae: Biology & Utilization*. Proceedings of the Inter-national Compositae Conference, Kew, 1994. Royal Botanical Gardens, Kew.

Lehman, J. W. 1988. *Operational Organic Chemistry. A Laboratory Course*. Allyn and Bacon, New York.

Li, X., D. Zhang, M. Onda, Y. Konda, M. Iguchi, & Y. Harigaya. 1990. *Ent*-kauranoid diterpenes from *Artemisia sacrorum*. *Journal of Natural Products* **53**(3):657-661.

Klayman, D. L., A. J. Lin, N. Acton, J. P. Scovill, J. M. Hoch, W. K. Milhous, & A. D. Theoharides. 1984. Isolation of artemi-sinin (Qinghaosu) from *Artemisia annua* growing in the United States. *Journal of Natural Products* **47**(4):715-717.

Klayman, D. L. 1985. *Qinghaosu* (Artemisi-nin): an antimalarial drug from China. *Science* **228**:1049-1054.

Klayman, D. L. 1993. *Artemisia annua*. From weed to espectable antimalarial plant, hlm. 242-250. Di dalam A.D. Kinghorn dan M. F. Balandrin (penyun-ting). *Human Medicinal Agent from Plant*. ACS Symposium Series 534. American Chemical Society, Wa-shington, D.C.

Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group. 1979. Antimalaria studies on qinghaosu. *Chinese Medical Journal* **92**(12):811-816.

Shugar, J. G. & J. T. Ballinger. 1990. *Chemical Technicans` Ready Reffe-rence Handbook.* Ed. ke-3. McGraw-Hill, New York.

Singh, A., R. A. Vishwakarma & A. Husain. 1988. Evalutation of *Artemisia annua* strains for higher artemisinin pro-duction. *Planta Medica* **54**(5):475-476.

Sugiarso, S., Djumidi & M. Nurhadi. 1995. *Adaptasi tumbuhan* Artemisia annua *L Asal Irian Jaya.* Balai Penelitian Tanaman Obat, Tawangmangu.

Williams, D. H. & Ian Fleming. 1995. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry.* Ed. ke-5. McGraw-Hill Book Company, London.

Woerdenbag, H. J., N. Pras, N. G. Chan, B. H. Bang, R. Bos, W. van Uden, P. Vam Y., S. batterman, & C. B. Lugt. 1994. Artemisinin, related sesqui-terpenes, and essential oil in *Artemisia annua* during vegetation period in Vietnam. *Planta Medica* **60**:272-275.