

MEKANISME KERJA ANDROGRAFOLIDA DARI SAMBILOTO SEBAGAI SENYAWA ANTIOKSIDAN

Elvira Yunita¹

¹Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu

Email: elvirayunita@unib.ac.id

Abstract

Andrographolide is the main bioactive compound derived from sambiloto, *Andrographis paniculata*. Andrographolide compounds can potentially be used as phytopharmaca substances. Andrographolide has very broad pharmacological aspects, including anti-inflammatory, anticancer and anti-diabetic. The pharmacological aspects possessed by andrographolide are probably closely related to the chemical profile and the mechanism of action of andrographolide as an antioxidant in counteracting free radicals. Therefore, it is important to know the chemical profile and mechanism of action of andrographolide compounds as antioxidants to understand the mechanism of action of these compounds in dealing with various diseases. This study is based on a review of related literature. Based on the literature review, it was found that the mechanism of action of andrographolide as anti-cancer, anti-inflammatory and anti-dyslipidemia is closely related to the mechanism of action of this compound as an antioxidant. The unsaturated - lactone structure at C13 and C14 of andrographolide can neutralize superoxide anions. The double bond in this carbonyl ester group will affect the deprotonization of the H atone located at C15 so that the H atoms on C15 will be easily extracted by the highly reactive superoxide anion. Thus, andrographolide can stop the chain reaction of a radical molecule. This mechanism can cause andrographolide compounds to play a role in reducing the effects of free radicals in various diseases.

Key word: andrographolide, antioxidant, sambiloto

Abstrak

Andrografolida merupakan senyawa bioaktif utama yang berasal dari sambiloto, *Andrographis paniculata*. Senyawa andrografolida dapat berpotensi sebagai sediaan fitofarmaka. Andrografolida ini memiliki aspek farmakologis yang sangat luas di antaranya sebagai antiinflamasi, antikanker dan antidiabetes. Aspek farmakologis yang dimiliki oleh andrografolida ini kemungkinan sangat berhubungan dengan profil kimia serta mekanisme kerja andrografolida sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Oleh karena itu, penting untuk diketahui profil kimia serta mekanisme kerja senyawa andrografolida sebagai antioksidan untuk memahami mekanisme kerja senyawa ini dalam menangani berbagai penyakit. Studi ini didasarkan pada telaah pustaka terkait. Berdasarkan telaah pustaka tersebut ditemukan bahwa mekanisme kerja andrografolida sebagai anti kanker, anti inflamasi maupun anti dislipidemia sangat berkaitan dengan mekanisme kerja senyawa ini sebagai antioksidan. Struktur - lakton tidak jenuh pada C13 dan C14 dari andrografolida dapat menetralkan anion superoksida. Ikatan rangkap pada grup ester karbonil ini akan mempengaruhi deprotonisasi aton H yang terletak pada C15 sehingga atom H pada C15 akan mudah diekstraksi oleh anion superoksida yang sangat reaktif. Dengan demikian, andrografolida dapat menghentikan reaksi berantai dari suatu molekul radikal. Mekanisme tersebut dapat menyebabkan senyawa andrografolida berperan dalam mengurangi efek radikal bebas pada berbagai penyakit.

Kata Kunci: Andrografolida, antioksidan, sambiloto

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan keberagaman tumbuhan yang melimpah. Indonesia juga berpotensi sebagai sumber obat herbal dan

fitofarmaka karena saat ini memiliki lebih kurang 30.000 spesies tumbuhan dan 940 di antaranya termasuk tumbuhan berkhasiat. Sampai saat ini ada 180 spesies yang telah dimanfaatkan oleh industri jamu

tradisional¹. Salah satu upaya meningkatkan pemanfaatan bahan alam Indonesia yang terjamin mutu, khasiat dan keamanannya, sehingga dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah dan dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan masyarakat. Badan POM bekerjasama dengan beberapa perguruan tinggi sedang meneliti 9 tanaman obat unggulan nasional. Kerjasama penelitian ini telah sampai ke tahap uji klinis, salah satu bahan alam yang diteliti adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees).

Sambiloto tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 700 m di atas permukaan laut. Tanaman ini tumbuh di daerah panas di wilayah Asia dengan iklim tropik dan sub tropik seperti di India, semenanjung Malaya dan hampir di seluruh pulau Indonesia¹. Sambiloto secara empiris telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional. Obat tradisional merupakan ramuan bahan alam yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral, ataupun campuran bahan-bahan tersebut yang digunakan dalam usaha pengobatan hanya berdasarkan pengalaman². Terdapat berbagai alternatif yang dapat digunakan untuk obat tradisional antara lain adalah obat bahan alam.

Senyawa andrografolida dari sambiloto berpotensi sebagai sediaan fitofarmaka. Fitofarmaka adalah sediaan obat bahan alam yang telah dibuktikan keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinik dan uji klinik, bahan baku dan produk jadinya

telah distandarisasi². Pada umumnya, sambiloto digunakan masyarakat Indonesia untuk mengobati gigitan ular, luka infeksi, influenza, kudis, luka bakar, infeksi saluran empedu, hepatitis maupun diare. Baru-baru ini juga ditemukan bahwa ekstrak dari sambiloto memiliki efek sebagai antikanker serta senyawa antioksidan^{3,4}. Komponen utama dari senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak sambiloto adalah andrografolida. Andrografolida ini memiliki aspek farmakologis yang sangat luas di antaranya sebagai antiinflamasi, antikanker dan antidiabetes^{5,6}. Kanker belakangan ini menjadi kasus yang penanganannya sedang diupayakan banyak pihak⁷.

Aspek farmakologis yang dimiliki oleh andrografolida ini sangat berhubungan dengan profil kimia serta mekanisme kerja andrografolida sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Radikal bebas merupakan gugus ataupun unsur yang mempunyai elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, sehingga senyawa ini bersifat sangat reaktif (tidak stabil). Di dalam tubuh, radikal bebas dapat menyebabkan proses peroksidasi lipid. Proses ini dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel sehingga berdampak pada kematian sel. Hal ini juga berkaitan dengan berbagai penyakit yang disebabkan karena radikal bebas. Pada kondisi normal, tubuh akan membentuk antioksidan untuk melawan radikal bebas sehingga terjadi keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang

bersifat inhibitor, yaitu menghambat atau mencegah interaksi antara radikal bebas dengan target molekulnya. Ketersediaan yang melimpah sambiloto di Indonesia serta khasiat sebagai senyawa antioksidan menjadikan andrografolida dari sambiloto memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai obat.

Mekanisme kerja sebagai antioksidan pada andrografolida memungkinkan senyawa ini dapat bertindak sebagai antikanker, antiinflamasi, antimalaria maupun antidiabetes. Oleh karena itu, penting untuk diketahui profil kimia serta mekanisme kerja senyawa andrografolida sebagai antioksidan untuk membuktikan dan meyakinkan bahwa penggunaannya sebagai komponen obat efektif dan aman digunakan.

Metode

Studi ini dilakukan dan didasarkan pada telaah kepustakaan yang berkaitan dengan andrografolida. Studi literatur melibatkan berbagai sarana pencarian seperti pubmed dan Cochrane. Berbagai kepustakaan yang diperoleh kemudian disarikan dan disintesis pada artikel ini.

Hasil dan Diskusi

1. Andrografolida sebagai Senyawa Bioaktif

Sambiloto

1.1. Gambaran Umum Sambiloto

Sambiloto diduga merupakan tumbuhan yang berasal dari India. Menurut data spesimen yang ada di Herbarium Bogoriense di Bogor, sambiloto sudah ada

di Indonesia sejak 1893. Sambiloto merupakan tumbuhan yang dapat hidup pada dataran rendah dengan ketinggian tempat 1-700 m di atas permukaan laut. Tumbuhan ini dapat hidup pada suhu udara 25-32°C, kelembaban udara dan intensitas cahaya sedang serta pada pH 5.5-6.5². Sambiloto merupakan tanaman herba tahunan yang memiliki ciri khas berupa rasa yang sangat pahit sehingga dalam bahasa Inggris dikenal juga sebagai *king of bitter*.

Semua bagian tanaman sambiloto, seperti daun, batang, bunga, dan akar, terasa sangat pahit jika dimakan atau direbus untuk diminum. Diduga ini berasal dari andrografolida yang dikandungnya. Sebenarnya, semua bagian tanaman sambiloto bisa dimanfaatkan sebagai obat, termasuk bunga dan buahnya. Namun bagian yang paling sering digunakan sebagai bahan ramuan obat tradisional adalah daun dan batangnya. Secara taksonomi, sambiloto diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Subkelas	: Gamopetalae
Ordo	: Personales
Famili	: Acanthaceae
Subfamili	: Acanthoidae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Spesies	: <i>Andrographis paniculata</i> Nees ²

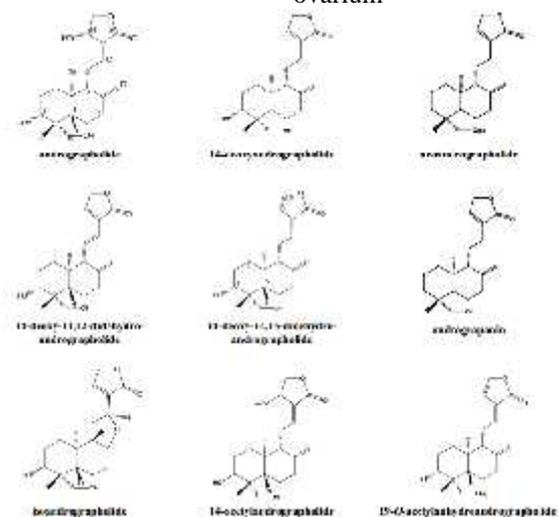
1.2. Kandungan Bahan Aktif Sambiloto (*A. paniculata*)

Secara kimia, *A. paniculata* mengandung flavonoid dan lakton. Pada lakton, komponen utamanya adalah andrografolida yang juga merupakan komponen zat aktif utama dari tanaman ini. Senyawa andrografolida terdapat pada semua bagian tanaman, dan paling tinggi terdapat pada bagian daun yaitu lebih dari 2%. Senyawa lainnya yang juga terdapat pada *A. paniculata* diantaranya adalah 14-deoksiandrografolida, 14-deoksi-11,12-dehidroandrografolida, neoandrografolid, 14-deoksi-14,15-dehidroandrografolida, andrograpanin dan isoandrografolida. Masing-masing komponen bioaktif tersebut memiliki aktivitas tertentu (Tabel 1). Deoksiandrografolid, neoandrografolid, 14-deoksi-11,12-dehidroandrografolida dan isoandrografolid merupakan komponen utama diterpen pada *A. paniculata* (Gambar 1). Selain itu, pada *A. paniculata* juga terdapat senyawa aktif berupa flavonoid (Gambar 2).

Tabel 1 Aktivitas biologi beberapa senyawa aktif dari *A. paniculata*⁴

Senyawa	Bioaktivitas
andrografolida	Menghambat produksi nitrogen oksida (NO), menghambat produksi radikal oksigen pada neutrofil, aktivitas antiinflamasi, aktivitas antikanker
14-deoksiandrografolida	Vasorelaksasi karena aktivasi NOS dan guanilat siklase <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i>

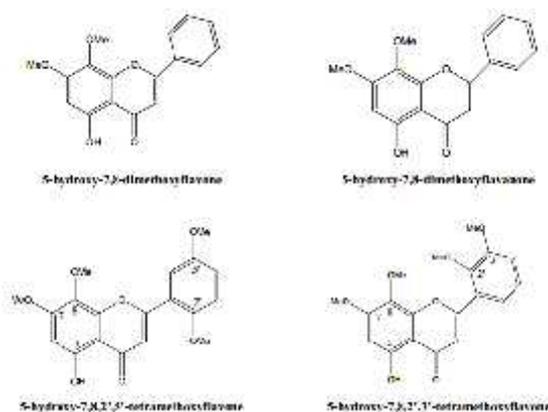
14-deoksi-11,12-dehidroandrografolida	Relaksasi otot, pelepasan NO dari sel endotel
neoandrografolid	NO, PGE2, iNOS dan COX-2 pada makrofag yang diaktivasi CCl ₄
14-deoksi-14,15-dehidroandrografolida	Aktivitas sitotoksik dan penghentian siklus sel tumor yang mengalami transaktivasi
andrograpanin	Kemotaksis jalur protein kinase atau p38 MAPK yang diinduksi kemokin SDF-1 pada sel jurkat dan THP-1
isoandrografolida	Diferensiasi sel yang menginduksi proliferasi sel HL-60, menghambat pertumbuhan sel leukemia, kanker ovarium



Gambar 1 Struktur komponen bioaktif yang diisolasi dari *A. paniculata*⁴

Andrografolida dapat diperoleh dari hasil ekstraksi sambiloto dengan menggunakan berbagai pelarut seperti etanol, methanol, n-butanol, etil asetat maupun air dengan berbagai konsentrasi. Pada saat dilakukan isolasi senyawa andrografolida, seringkali deoksiandrografolida juga ikut terbawa. Hal ini disebabkan oleh kemiripan struktur sehingga kedua molekul tersebut juga memiliki kepolaran yang mirip. Meskipun demikian, pada ekstraksi dengan

menggunakan metanol 100%, dapat diperoleh 1.14×10^{-1} gram andrografolida murni per 100 g daun kering³. Selain pelarut yang digunakan, faktor lainnya yang mempengaruhi kuantifikasi andrografolid murni yang diperoleh adalah waktu panen serta bagian tumbuhan yang diambil. Sharma M & Sharma RG menyatakan bahwa konsentrasi andrografolida tertinggi diperoleh jika pemanenan dilakukan pada usia tanam 110 hari. Kandungan andrografolida pada daun lebih tinggi dibandingkan pada batang. Persentase andrografolida pada daun sebesar 2.6%, sedangkan pada batang sebesar 0.1-0.4%⁸.



Gambar 2 Komponen bioaktif flavonoid dari *A. paniculata*⁴

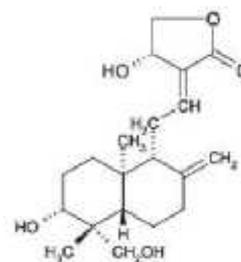
1.3. Toksisitas Sambiloto

Nilai LD_{50} dari herba sambiloto cara pemberian peroral adalah 27,538 g/kg BB (*practically non-toxic*)¹⁰. Ekstrak daun sambiloto pada hewan uji tidak menunjukkan efek toksik pada fungsi hati dan ginjal hewan uji pada pengujian subkronik. Uji ini juga tidak menunjukkan efek teratogenitas pada hewan uji. Pada mencit yang diberi rebusan sambiloto secara oral dengan dosis 10 g/kg BB sekali sehari selama 7 hari,

tidak ada satupun mencit yang mati⁹. Pada kelinci yang diberikan andrografolida secara intravena (10 mg/kg BB) tidak ada kelainan pada kardiovaskular. Pada pengujian lainnya, tikus atau kelinci diberikan 1g/kg BB isolat andrografolida atau neoandrografolida secara oral selama 7 hari, tidak memberikan efek pada berat badan, jumlah darah, fungsi hati dan ginjal, atau organ penting lainnya¹¹.

2. Profil Kimia Andrografolida

Andrografolida (Gambar 3) memiliki rumus molekul $C_{20}H_{30}O_5$, termasuk komponen diterpen lakton. Diterpenoid adalah kelompok senyawa yang berasal dari 4 satuan dasar C_5 isoprena. Tata nama organik berdasarkan *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) untuk andrografolida adalah 3-[2-{decahydro-6hydroxy-5-(hydroxymethyl) 5, 8 - dimethyl- 2-dimethylen- 1-naphthalenyl}ethylidene] dihidro-4-hydroxyl-2(3H)-furanone. Bentuk Kristal andrografolida berupa lempeng segi empat tidak berwarna dengan rasa yang sangat pahit¹².



Gambar 3 Struktur molekul andrografolida

Berat molekul andrografolida adalah 350 dengan titik lebur $230^{\circ}C-239^{\circ}C$. Molekul andrografolida bersifat kurang stabil dan akan mengalami perubahan menjadi 14-deoksi-11,12-

didehidroandrografolida secara perlahan selama penyimpanan. Proses ini dipercepat oleh panas. Dengan demikian, penyimpanan andrografolida selama proses pembuatan obat atau dalam penelitian harus diperhatikan agar struktur molekul andrografolida tidak berubah. Senyawa andrografolida praktis tidak larut dalam air (0.004% atau 1:25.000) atau sukar larut dalam air¹³, tetapi larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton, kloroform dan eter.

3. Farmakokinetika dan Farmakodinamika

Andrografolida

Profil farmakokinetik andrografolida telah banyak diteliti. Beberapa studi dilakukan untuk melihat disposisi andrografolid dalam berbagai organ tubuh. Tang & Eisenbrandt menunjukkan bahwa setelah 48 jam pemberian andrografolida, komponen ini ditemukan tersebar luas pada seluruh organ tubuh. Konsentrasi yang dijumpai di otak sebesar 20,9%, limpa 14,9%, jantung 11,1%, paru-paru 10,9%, rektum 8,6%, ginjal 7,9%, hati 5,6%, uterus 5,1%, ovarium 5,1%, dan usus halus sebesar 3,2%. Andrografolid juga memiliki bioavailabilitas yang tinggi pada manusia. Setelah pemberian peroral, 20 mg andrographolida segera diabsorpsi, mencapai nilai puncak plasma dalam waktu 1,5 sampai 2 jam dengan waktu paruh 6,6 jam. Sementara pada penelitian lainnya menunjukkan waktu paruh andrographolida relatif singkat, lebih kurang dalam waktu 2 jam. Setelah 72 jam, hampir 90% andrographolida dieksresikan. Sebagian besar

eksresinya ini melalui urin, sebagian lainnya melalui saluran cerna¹⁴. Andrografolida memiliki banyak efek farmakologi terutama berkaitan dengan sifat antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antihiperglikemia, maupun sebagai senyawa yang memicu imunomodulasi.

4. Radikal Bebas, Stres Oksidatif dan Antioksidan

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya¹⁵. Untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh selama molekul radikal belum bereaksi dengan antioksidan.

Stres oksidatif telah diketahui sebagai suatu mekanisme yang berimplikasi pada sejumlah besar penyakit seperti arterosklerosis, fibrosis paru, penuaan, sindrom metabolik, neurodegeneratif dan kanker. Stress oksidatif secara luas didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara produksi oksidan dengan antioksidan sel untuk mencegah kerusakan karena proses oksidasi biologis¹⁶. Molekul oksigen memang sangat penting untuk kelangsungan hidup semua organisme aerobik. Berkurangnya sejumlah elektron pada reaksi metabolik di mitokondria dapat menyebabkan terbentuknya molekul oksigen yang reaktif dan dikenal sebagai *reactive oxygen spesies*

(ROS). Selain diproduksi di dalam sel sendiri, radikal bebas juga dapat masuk ke dalam tubuh dari lingkungan luar.

Lipid peroksida terbentuk dari proses autooksidasi atau dari peroksidasi lemak karena adanya penyerangan oleh radikal bebas. Membran biologis dan lipoprotein peka terhadap lipid peroksida. Efek dari lipid peroksida adalah penurunan stabilitas membran, oksidasi dari kelompok *thiol* oleh enzim pada membran dan pembebasan dari pemecahan produk (seperti malondialdehid) yang dapat menyebabkan kerusakan. Selain lipid, ROS berpotensi juga untuk merusak molekul protein dan DNA¹⁷.

Efek radikal bebas dalam tubuh akan dinetralkan oleh antioksidan yang dibentuk oleh tubuh sendiri dan suplemen dari luar melalui makanan, minuman atau obat-obatan, seperti karotenoid, vitamin C, E, dan lain-lain. Antioksidan adalah senyawa yang melindungi sel melawan radikal bebas, seperti oksigen singlet, superoksida, radikal peroksil, radikal hidroksil dan peroksinitrit. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Ketidakseimbangan antara antioksidan dan hasil spesies oksigen reaktif dalam stres oksidatif menyebabkan kerusakan sel.

Tubuh memiliki antioksidan endogen untuk melindungi sel-sel dari radikal bebas. Antioksidan

enzim yang banyak terlibat sebagai komponen antioksidasi ini adalah superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase (GPx). SOD merupakan enzim yang berperan dalam mereduksi molekul oksigen radikal melalui reaksi dismutase sehingga terbentuk molekul H₂O₂. Molekul hidrogen peroksida ini kemudian akan diubah oleh katalase sehingga membentuk produk berupa oksigen dan air. Selain itu, glutathion juga berperan dalam proses antioksidasi dalam tubuh. Hal ini dibantu oleh kerja enzim GPx dan glutathion reduktase.

5. Aktivitas Biologis Radikal Bebas

5.1 Sejarah

Radikal bebas mulai banyak dikenal sejak awal abad ke-20. Definisi pertama bagi molekul ini yaitu komponen intermediet yang dikenal dalam kimia organik maupun anorganik dan beberapa definisi mengenai komponen ini pun mulai diajukan. Pada tahun 1954, Gilbert D dan Gersham R¹⁸ mempublikasikan komponen ini sebagai molekul yang berperan penting dalam kondisi lingkungan biologis serta terlibat dalam proses oksidasi di dalam sel. Pada tahun 1956, Herman Denham¹⁹ menyatakan bahwa komponen ini kemungkinan terlibat dalam proses penuaan. Hipotesis ini menyebabkan riset-riset ke arah radikal bebas semakin berkembang. Spesies oksigen reaktif (ROS) kemudian diketahui berperan besar dalam proses oksidasi biologis ini. Toksisitas oksigen dalam sel mulai banyak diteliti.

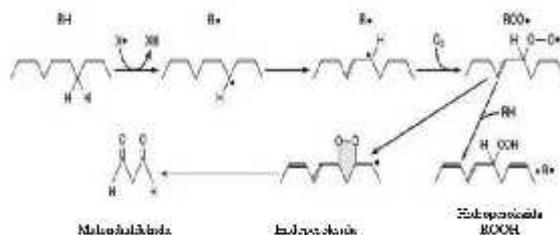
5.2 Kerusakan Oksidatif dalam Sel

Akumulasi molekul radikal seperti ROS di dalam sel dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada kompartemen sel dan mempengaruhi perubahan fungsi seluler. Sebagian besar target dari radikal bebas berupa enzim, membran lipid dan DNA. Secara kimia, molekul radikal dapat dikelompokkan berdasarkan kompartemen yang memproduksi maupun lokasi kerjanya. Misalnya radikal hidroksil yang diproduksi di mitokondria dan dapat merusak kompartemen mitokondria saja, tidak dapat bekerja pada nukleus. Hal ini berbeda dengan molekul hidrogen peroksida yang diproduksi di mitokondria tetapi dapat juga bekerja pada sitoplasma maupun nukleus.

5.2.1 Lipid dan Peroksidasi Lipid

Membran sel sebagian besar tersusun atas asam lemak tidak jenuh. Kerusakan pada molekul lipid yang disebabkan oleh oksidasi disebut peroksidasi lipid. Proses ini terjadi dalam tiga tahap pembentukan, yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi (Gambar 4)¹⁵. Tahap inisiasi diawali dengan pemisahan sebuah atom hidrogen oleh radikal bebas dari suatu gugus metilena (-CH₂-) dari asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acid*, PUFA), yang membentuk suatu radikal karbon (*CH-) pada PUFA. Radikal karbon distabilkan melalui pengaturan ulang ikatan rangkap yang membentuk diena terkonjugasi. Jika diena terkonjugasi bereaksi dengan O₂ terbentuk radikal peroksida lipid (ROO*). Tahap propagasi,

radikal peroksida lipid juga dapat menghilangkan sebuah atom hidrogen dari molekul lipid lain yang berdekatan sehingga membentuk radikal lipid lain, yang bereaksi dengan O₂ maka reaksi peroksidasi lipid terus berlanjut. Tahap terminasi terjadi saat dua molekul radikal bebas bereaksi atau adanya senyawa antioksidan dan membentuk spesies nonradikal. Komponen hidrosiperoksida berupa komponen nonradikal akan membentuk kompleks peroksidasi lipid sekunder seperti gas hidrokarbon (misalnya etana dan pentana) dan aldehid (misalnya malondialdehid serta 4-hidroksinoneal).



Gambar 4 Reaksi Peroksidasi Lipid

5.2.2 Diabetes Memicu Produksi Radikal Bebas yang Dapat Mempengaruhi Molekul Karbohidrat

Radikal bebas seperti radikal hidroksil dapat bereaksi secara random dengan molekul karbohidrat. Distribusi elektron pada atom-atom karbon sehingga terbentuk *carbon-centered radical*. Hal ini menyebabkan gangguan pada jalur sintesis molekul penting seperti asam hialuronat. Selain itu, hal tersebut juga memicu peningkatan aktivasi neutrofil selama proses inflamasi sehingga banyak menghasilkan

molekul radikal yang juga akan berkaitan dengan reumatoid artitis.

Selain itu, studi eksperimental menunjukkan mekanisme radikal bebas sangat berkaitan dengan diabetes, terutama komplikasi dari penyakit diabetes. Vasan *S et al.*²⁰ menyatakan bahwa pemberian antioksidan pada hewan coba dengan diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2 dapat mereduksi resiko komplikasi diabetes. Kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes menyebabkan dihasilkannya sejumlah radikal bebas. Hal ini dapat disebabkan oleh: a) reaksi autooksidasi molekul glukosa; b) non enzimatis glikosilasi; dan c) *polyol pathway*.

5.2.3 Radikal Bebas dapat Merusak Struktur DNA

Kerusakan oksidatif pada molekul DNA merupakan hasil interaksi molekul DNA dengan ROS ataupun RNS. Radikal bebas seperti radikal hidroksil maupun radikal hidrogen akan berinteraksi dengan molekul DNA dengan penambahan gugus hidrogen pada basa ataupun pada gula deoksiribosa. Penambahan gugus ini pada purin akan membentuk struktur 8-hidroksideoksiganosin (8-OHdG). Interaksi dengan pirimidin adenin membentuk 8-hidroksideoksiadenosin²¹. Perubahan ini dapat menyebabkan *misspairing* yang berdampak pada mutasi. Meskipun demikian, dalam tubuh terdapat mekanisme koreksi berupa DNA *repair*.

DNA merupakan target utama pada kerusakan akibat radikal bebas. Kerusakan yang terjadi dapat

berupa kerusakan *strain* DNA. Selain itu, dapat menyebabkan perubahan basa seperti pembentukan 8-hidroksideoksiganosin dan timin glikol, kerusakan pada gula deoksiribosa serta kerusakan pada protein-protein yang terikat secara langsung maupun tidak langsung pada DNA. Kerusakan akan berdampak pada terjadinya mutasi yang dapat menginduksi terjadinya kanker.

DNA merupakan molekul yang stabil dan terlindungi. Meskipun demikian, ROS dapat berinteraksi merusak struktur DNA, sebagian besar merupakan radikal hidroksil. Selain dapat berinteraksi dengan atom C8 dari gugus purin maupun pirimidin, pada basa adenine radikal hidroksil juga dapat berinteraksi dengan atom C4 ataupun C5 membentuk 4-hidroksiadenin ataupun 5-hidroksiadenin²¹.

5.2.3 Kerusakan karena Protein Teroksidasi

Oksidasi molekul protein oleh ROS maupun NOS dapat menyebabkan banyak terbentuknya protein hidro peroksida yang dapat bertindak sebagai molekul radikal dan terutama akan berinteraksi dengan molekul besi. Ditemukan banyak lipofucin, agregat dari lipid peroksida dengan sejumlah protein yang terakumulasi pada lisosom serta sel otak pada penderita Alzheimer. Hal ini disebabkan oleh reaksi agregasi dari protein yang teroksidasi²².

Protein integral pada membran juga memiliki kemungkinan yang besar untuk terpapar radikal bebas, baik berupa oksigen maupun nitrogen. Kerusakan

molekul protein yang disebabkan oleh oksidan ini dapat menyebabkan protein kehilangan kemampuan enzimatisnya, mengganggu fungsi sel, dan mempengaruhi potensial membran. Produk reaksi oksidasi protein biasanya berupa aldehid, komponen keto dan karbonil. Senyawa yang seringkali dijadikan sebagai marker pada kerusakan protein karena proses oksidasi radikal adalah 3-nitrotirosin. Produk ini dihasilkan dari reaksi antara NOS dengan asam amino tirosin²³.

6. Mekanisme Kerja Andrografolida sebagai

Antioksidan

Pada aspek penggunaan klinis, seringkali sejumlah tanaman tertentu diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan dapat didefinisikan sebagai komponen yang dapat menghentikan reaksi oksidasi pada lipid atau biomolekul lainnya dengan menghambat tahapan inisiasi ataupun propagasi. Karakteristik sifat antioksidan senyawa andrografolida seringkali dikaitkan dengan aspek farmakologi yang dimiliki. Dengan demikian, mekanisme kerja andrografolida sebagai komponen anti inflamasi, antikanker, serta terhadap beberapa sindrom metabolik seringkali dihubungkan dengan mekanisme kerja andrografolida sebagai komponen antioksidan. Hal ini terutama berkaitan dengan luasnya dampak yang dapat ditimbulkan oleh stress oksidatif di dalam sel, sehingga penyakit-penyakit tertentu seperti diabetes, kanker,

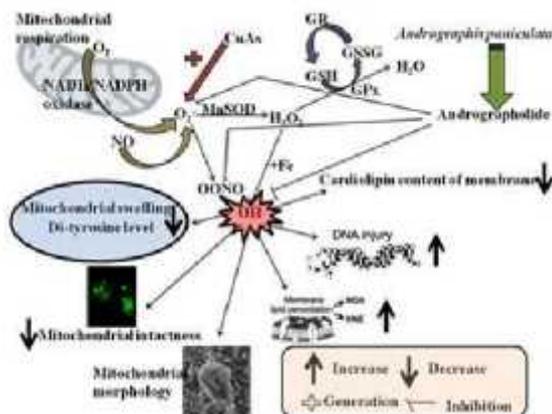
hiperkolesterolemia, alzheimer maupun hepatoprotektif seringkali dikaitkan dengan reaksi radikal bebas.

Riset mengenai kemampuan molekul andrografolida sebagai antioksidan telah diteliti dari waktu ke waktu. Injeksi intraperitoneal andrografolida dan neoandrografolida dengan dosis 100 mg/kg BB selama 7 hari dapat menaikkan aktivitas antioksidan seluler dan menurunkan konsentrasi lipid peroksida yang terbentuk. Ekstrak metanol maupun aquades dari *A. paniculata* juga menunjukkan reaksi yang sama, dapat menurunkan konsentrasi lipid peroksida yang terbentuk. Komponen neoandrografolida dapat menghentikan reaksi radikal dengan mendonorkan hidrogen yang terdapat pada cincin lakton²⁴.

Shen YC *et al.*²⁵ menyatakan bahwa andrografolida dapat mencegah produksi ROS oleh sel neutrofil manusia. Hal ini berkaitan dengan mekanisme yang terlibat dalam aktivitas anti inflamasi senyawa ini. Reaksi yang dihambat oleh andrografolida adalah reaksi adhesi maupun transmigrasi neutrofil. Selain itu, molekul andrografolida juga mempengaruhi ekspresi gen Mac-1. Andrografolida dapat menekan ekspresi gen Mac-1 yang menyebabkan penurunan produksi ROS oleh sel-sel neutrofil melalui jalur *PKC-dependent* dan *Ca-independent*. Andrografolida juga berperan sebagai senyawa yang efektif sebagai anti-adhesi dan anti-inflamasi. Dengan demikian, andrografolida berperan sebagai senyawa antiinflamasi pada fase awal infiltrasi neutrofil. Percobaan pada tikus

menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *A. paniculata* secara oral 1g/kg BB dapat menurunkan secara signifikan status antioksidan yang terdapat pada urin hewan coba.

Dutta M *et al.*²⁶ melaporkan bahwa andrografolida dapat melindungi mitokondria dari kerusakan oksidatif. Secara fisiologis, mitokondria merupakan organel utama yang menjadi sumber terbentuknya ion-ion radikal di dalam sel. Molekul radikal ini dapat berasal dari rantai pernafasan, pada kompleks III yang memungkinkan terlepasnya sejumlah proton yang bertemu dengan molekul oksigen sehingga dapat membentuk radikal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian andrografolida pada sel jantung kambing yang telah diinduksi Cu-askorbat dapat mencegah kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas berupa hidrogen peroksida, anion superoksida maupun radikal hidroksil. Gambar 5 menunjukkan mekanisme antioksidan yang memproteksi mitokondria pada sel jantung kambing.



Gambar 5 Diagram Skematik Mekanisme Antioksidan²⁶

6.1 Sifat Antioksidan dan Prooksidan Andrografolida

Analisis kualitatif metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman *A. paniculata* dengan menggunakan beberapa pelarut ditunjukkan oleh Tabel 2. Penggunaan pelarut kloroform, aseton, metanol dan air mempengaruhi pengujian kualitatif metabolit sekunder yang dianalisis. Tabel 2 menunjukkan komponen terpenoid terdeteksi positif pada ekstrak petroleum eter, benzene, kloroform, aseton, metanol dan air. Dengan demikian, komponen terpenoid ini merupakan komponen utama dari ekstrak *A. paniculata*. Salah satu jenis metabolit sekunder berupa senyawa diterpen yang paling dominan terdapat pada *A. paniculata* adalah andrografolida.

Tabel 2 Analisis Fitokimia Kualitatif Simplisia Daun *A. paniculata*²⁷

No	Komponen	Pelarut					
		PE	Benzene	Kloroform	Aseton	Metanol	Air
1	Alkaloid	-	-	+	-	+	+
2	Flavonoid	-	-	-	+	+	+
3	Tanin & Fenol	-	-	+	+	+	+
4	Saponin	-	-	-	-	-	+
5	Terpenoid	+	+	+	+	+	+
6	Steroid	+	+	+	+	-	+

Berkaitan erat dengan struktur molekul andrografolida, senyawa ini dilaporkan memiliki dua aktivitas reduksi dan oksidasi. Hal ini berkaitan dengan struktur lakton-, tidak jenuh (, - *unsaturated lacton*). Bagian dari struktur molekul ini dapat menetralkan anion superoksida sehingga

andrografolida bersifat sebagai antioksidan. Selain itu, andrografolida juga dapat bereaksi dengan molekul GSH yang dapat menimbulkan stres oksidatif pada sel.

Ikatan aktif antara unsur karbon dan hidrogen pada struktur cincin lakton andrografolida dapat mereduksi oksidan ketika unsur-unsur dari struktur ini mengalami deprotonisasi. Zhang²⁸ menyatakan bahwa neoandrografolida dapat menetralkan anion superoksida yang reaksi kuncinya terdapat pada struktur -lakton tidak jenuh pada C13 dan C14. Ikatan rangkap pada grup ester karbonil ini akan mempengaruhi deprotonisasi atom H yang terletak pada C15 sehingga atom H pada C15 akan mudah diekstraksi oleh anion superoksida yang sangat reaktif. Dengan demikian, andrografolida dapat menghentikan reaksi berantai dari suatu molekul radikal.

Selain itu, andrografolida juga memiliki aktivitas sebagai prooksidan. Zhang²⁸ melakukan penelitian pada sel HepG2 yang diberikan 100 μM andrografolida dan diinkubasi selama 12 jam. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa andrografolida dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi ROS, terutama hidrogen peroksida dalam sel serta dapat menyebabkan deplesi GSH. Mekanisme yang terjadi mengenai hal ini kemungkinan besar karena andrografolida akan bereaksi dengan GSH membentuk *dehydrated adduct*, yaitu berupa senyawa 14-deoksi-12-(glutathion-amino)-andrografolida dan 14-deoksi-12-(glutathion-S-il)-andrografolida.

Kemampuan senyawa andrografolida sebagai antioksidan tetapi juga memiliki aktivitas sebagai prooksidan ini berkaitan dengan aspek farmakologisnya. Sebagai antioksidan, andrografolida mengatur pasang naik (*up-regulates*) pertahanan antioksidan di sel hati²⁹, sel jantung³⁰ dan memiliki aktivitas hepatoprotektif²⁹ dan neuroprotektif. Tetapi, andrografolida juga memiliki aktivitas sebagai prooksidan dengan mendeplesi GSH. Risdawati³¹ menyatakan bahwa pemberian andrografolida dosis kecil (15 μM) menyebabkan peningkatan GSSG. Dengan demikian, pemberian andrografolida dosis 15 μM pada biakan *Plasmodium berghei* dapat meningkatkan stres oksidatif pada parasit tersebut, atau andrografolida memiliki aktivitas prooksidan. Peningkatan kadar GSSG penurunan kadar GSH ini juga akan meningkatkan peran antioksidan lainnya. Andrografolida memiliki kemampuan untuk berikatan dengan gugus -SH dari tripeptida GSH atau protein tiol lain sehingga menyebabkan perubahan struktur (terutama pada situs aktif) protein sehingga dapat mengubah struktur protein ataupun mendeplesi GSH. Sifat sitotoksik andrografolida dan kemampuannya untuk menginduksi sel tumor telah dieksplorasi untuk pemanfaatan andrografolida sebagai antikanker.

Simpulan

Andrografolida merupakan suatu diterpen lakton yang berasal dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*). Senyawa ini memiliki bobot molekul 350 dan titik lebur 230^oC-239^oC. Selain andrografolida, senyawa aktif lainnya yang terdapat juga pada sambiloto diantaranya adalah deoksiandrografolida, 14-deoksi-11,12-dehidroandrografolida, neoandrografolid, 14-deoksi-14,15-dehidroandrografolida, andrograpanin dan isoandrografolida. Meskipun demikian, andrografolida merupakan komponen bioaktif utama yang memiliki banyak aspek farmakologis. Aspek farmakologis andrografolida tersebut diantaranya yaitu sebagai anti inflamasi, anti kanker, anti dislipidemia, antioksidan serta memiliki efek hepatoprotektif. Mekanisme kerja andrografolida sebagai anti kanker, anti inflamasi maupun anti dislipidemia sangat berkaitan dengan mekanisme kerja senyawa ini sebagai antioksidan. Struktur - lakton tidak jenuh pada C13 dan C14 dari andrografolida dapat menetralkan anion superoksida. Ikatan rangkap pada grup ester karbonil ini akan mempengaruhi deprotonisasi atom H yang terletak pada C15 sehingga atom H pada C15 akan mudah diekstraksi oleh anion superoksida yang sangat reaktif. Dengan demikian, andrografolida dapat menghentikan reaksi berantai dari suatu molekul radikal. Selain itu, andrografolida juga memiliki aktivitas sebagai prooksidan. Andrografolida memiliki kemampuan untuk berikatan dengan gugus -SH dari

tripeptida GSH atau protein tiol lain sehingga menyebabkan perubahan struktur (terutama pada situs aktif) protein sehingga dapat mengubah struktur protein ataupun mendepleksi GSH.

DAFTAR PUSTAKA

1. Direktorat Obat Asli Indonesia, Badan POM RI. *Acuan Sediaan Herbal*. Vol:5. (2012).
2. Departemen Kesehatan RI, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. (2000).
3. Kumoro AC and Hasan M. Modelling of andrographolide extraction from *Andrographis paniculata* leaves in soxhlet extractor. *Proceeding of the 1st International Conference on Natural Resources Engineering & Technology*, 24-25th July 2006. Putrajaya Malaysia. 664-670. (2006). [http://eprints.undip.ac.id/246/1/CPE78 -
_Masitah_Hasan.pdf](http://eprints.undip.ac.id/246/1/CPE78_-_Masitah_Hasan.pdf)
4. Chao W.W and Lin B.F. Isolation and identification of bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuqnxinlian). *Chi. Med.* 5:17. (2010). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20465823/>
5. Yang L, Wu D, Luo K, Wu S, Wu P. Andrographolide enhances 5-fluorouracil-induced apoptosis via caspase-8 dependent mitochondrial pathway involving p53 participation in hepatocellular carcinoma (SMMC-7721) cell. *Cancer Letter.* 276: 180-188. (2009). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19097688/>
6. Umadevi U, Kamalam M. Phytochemical and Antioxidant studies on an important indigenous medicinal plant- *Andrographis paniculata* Nees. *International Journal of Pharmateutical Sciences and Research*. Vol(12): 5240-5244. (2014).
7. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. *Situasi Penyakit Kanker di Indonesia*. (2015).
8. Sharma M, Sharma RG. Identification, purification and quantification of andrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm F) Nees by HPLC at different stages of life cycle of crop. *J. Curr. Chem. Pharm. Sc.* 3(1): 23-32. (2013). <https://www.tsijournals.com/articles/identification-purification-and-quantification-of-andrographolide-from-andrographis-paniculata-burm-f-nees-by-hptlc-at-d.pdf>
9. Panossian A, Davtyan T, Gukasova N, Gukasova G, Mamikonyan G, Garielian E, et al. Effect of andrographolide and kan jang fixed combination of extract SHA-10 and extract SHE-3 on

- proliferation of human lymphocytes, production of cytokines and immune activation markers in the whole blood cells culture. *Phytomed.* 9:598-605. (2002).
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12487323/>
10. Chung Y. *Andrographis paniculata*. *Handbook of Traditional Chinese Medicine*, Guangzhou. (1979).
 11. Guo, S.Y., D.Z. Li, W.S. Li, A.H. Fu, and L.F. Zhang. Study of the toxicity of andrographolide in rabbits. *J. Beijing Med. Univ.* 5:422-28. (1998).
 12. Jarukamjorn K, Nemoto N. Pharmacological aspect of *Andrographis paniculata* on health and its major diterpenoid constituent andrographolide. *J Health Sci.* 54(4): 370-81. (2008).
[http://jhs.pharm.or.jp/data/54\(4\)/54_370.pdf](http://jhs.pharm.or.jp/data/54(4)/54_370.pdf)
 13. Suharmiati. Isolasi dan Identifikasi Andrografolida dari herba *Andrographis paniculata* Ness. ITB Central Library. Media Litbang Kesehatan. 11(2). (2011).
 14. Widyawati T. Aspek farmakologi sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). *Majalah Kedokteran Nusantara*. Vol 40. No. 3. (2007).
<http://repository.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/18735/mkn-sep2007-40%20%2810%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 15. Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. *Biokimia Harper*. Ed ke-27. Pendit BU, penerjemah; Jakarta: EGC. Terjemahan dari: Harper's Illustrated Biochemistry, 27th ed. (2009).
 16. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. London: Oxford Univ. (1999)
 17. Peck M D. Interaction of lipid with immune function I: biochemical effect of dietary lipid on plasma membranes. *Nutrition Biochemistry Journal*. Vol (5): 466-467. (1994).
 18. Gilbert DL. *Perspective on The History of Oxygen and Life, Oxygen and The Living Process: An Interdisciplinary Approach*. Springer Verlag, New York, 1-43. (1981).
 19. Harman D. Aging, a Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *J. Gerontol.* 11:298-300. (1956).
 20. Vasani S, Foiles P, Found H. Therapeutic potential of breaker of advanced glycation end product – protein crosslinks. *Arch Biochem Biophys.* 419: 89-96. (2003).
 21. Halliwell B, Auroma OI. *DNA and Free Radical*. Boca Raton Press. (1993).
 22. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Science.* 257: 1220-25. (1992).
 23. Shririsha K, Mastan M. *Andrographis paniculata* and its bioactive phytochemical constituents for oxidative damage: a systemic review. *Pharmacophore.* Vol 4(6): 212-229. (2013).
<https://pharmacophorejournal.com/storage/models/article/HYcJoySakNOdjIirAuGrc1m9R6huZzjKNaBiAqPuqF5lRJKO3xPVZ12vZ61i/andrographis-paniculata-and-its-bioactive-phytochemical-constituents-for-oxidative-damage-a-system.pdf>
 24. Singh RP, Banerjee D, Rao AR. Modulatory influence of *Andrographis paniculata* on mouse hepatic and extrahepatic carcinogen metabolizing enzymes and antioxidant status. *Phytother Res.* 15: 382-390. (2008).
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11507728/>
 25. Shen YC, Chen CF, Chiou WF. Andrographolide prevents oxygen radical production by human neutrophils: possible mechanism(s) involved in its anti-inflammatory effect. *British Journal of Pharmacology.* 135:399-406. (2002).
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11815375/>
 26. Dutta M, Ghosh AK, Jain G, Rangari V, Chattopadhyay A, Das T, Bhowmick D, et al. Andrographolide, one of the major components of *Andrographis paniculata* protects against copper-ascorbate induced oxidative damages to goat cardiac mitochondria in vitro. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 28(1): 237-247. (2014).
 27. Umadevi U, Kamalam M. Phytochemical and antioxidant studies on an important indigenous medicinal plant- *Andrographis paniculata* (Burm.F) Nees. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* Vol 5(12): 5240-5244.
<https://ijpsr.com/bft-article/phytochemical-and-antioxidant-studies-on-an-important-indigenous-medicinal-plant-andrographis-paniculata-burm-f-nees/?view=fulltext>
 28. Zhang Z. *reaction and Computational Studies of Andrographolide Analogues with Glutathione and Biological Nucleophiles* [thesis]. City Univ of Hongkong: October 2007.
 29. Chen HW, Huang YJ, Yao HT, Lii CK. Introduction of nrf2-dependent antioxidation and protection against carbon tetrachloride-induced liver damage by *andrographis paniculata* ethanolic extract. *J Tradit Complement Med.* 325(1): 226-35. (2008).
 30. Risdawati. *Mekanisme Kerja Andrografolida dari Sambiloto (Andrographis paniculata, Nees) sebagai Senyawa Antimalaria: Kajian terhadap status oksidatif Plasmodium berghei ANKA*. [disertasi]. Program Doktor Ilmu Biomedik Universitas Indonesia. (2014).