

REVIEW: AKTIVITAS ANTI INFLAMASI DAN BIOAVAILABILITAS ANDROGRAFOLID PADA HEWAN UJI

Annisa Claudia Musefi Chairani, Nyi Mekar Saptarini

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor 45363

claudiaannisa@gmail.com

ABSTRAK

Andrografolid merupakan komponen aktif utama dalam herba sambiloto (*Andrographis paniculata*). Komponen aktif ini memiliki beberapa aktivitas farmakologi seperti sebagai immunosupresan, antitrombotik, antivirus, antioksidan serta anti inflamasi. Andrografolid sebagai anti inflamasi dan antioksidan bekerja terhadap berbagai sel tubuh dengan mekanisme yang spesifik. Kini, pengembangan dan penelitian andrografolid sebagai anti inflamasi terus dilakukan terhadap berbagai hewan uji seperti mencit, tikus, kelinci bahkan manusia. Dosis efektif larutan andrografolid pada mencit sebesar 4 mg/kg BB; pada tikus sebesar 20 mg/kg BB; pada kelinci sebesar 7,04 g/kg BB; dan pada manusia sebesar 12 mg/kg BB.

Kata Kunci: Andrografolid, Herba Sambiloto, Dosis, Hewan Uji, Anti inflamasi

ABSTRACT

Andrographolide is a major component of the active substance in the sambiloto herbs (*Andrographis paniculata*). The active component has several pharmacological activities, such as immunosuppressant, antithrombotic, antiviral, antioxidant and anti inflammatory agent. Andrographolide as anti inflammatory and antioxidant works to various cells of the body with a specific mechanism. Lately, andrographolide research and development as anti inflammatory is continued to conduct against various animals test, such as mice, rats, rabbits and even humans. The effective dose is obtained in mice at 4 mg/kg BW; in rats at 20 mg/kg BW; in rabbits at 7.04 g/kg BW; and in humans at 12 mg/kg BW.

Keywords: Andrographolide, Sambiloto Herbs, Dose, Animal Testing, Anti inflammatory

PENDAHULUAN

Andrografolid merupakan komponen aktif utama dalam herba sambiloto (*Andrographis paniculata*). Herba sambiloto merupakan salah satu dari sembilan tanaman obat unggulan nusantara yang terus dilakukan penelitian dan uji klinis (1). Sambiloto telah digunakan sejak

waktu lama di berbagai negara seperti di India sebagai obat malaria, disentri, diare, penurun panas serta pembersih racun dalam tubuh. Dari India, penggunaan sambiloto menyebar ke daerah Asia Tenggara hingga ke Indonesia (2). Di Indonesia, penggunaan sambiloto banyak dalam bentuk tunggal, tablet maupun jamu.

Berdasarkan fungsi empiris tersebut, herba sambiloto terus dikembangkan dan dilakukan penelitian mengenai keamanan dan aktivitas farmakologinya. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa andrografolid memiliki beberapa aktivitas farmakologi seperti sebagai immunosupresan, antitrombotik, antivirus serta anti inflamasi (3).

Andrografolid memiliki potensi yang besar sebagai obat anti-inflamasi dengan berbagai mekanisme kerja. Menurut hasil beberapa penelitian yang telah dilakukan, andrografolid bekerja pada sel RAW 264.7 dengan menghambat ekspresi protein *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) (4); pada sel neutrofil dengan menghambat produksi radikal oksigen (5); pada sel fibroblas manusia dengan menghambat ekspresi siklooksigenase (6); dan pada sel *embryonic kidney* 293; CRL-1573, sel *promyeloid* HL-60; CCL-240, sel fibroblas mencit NIH3T3; CRL-1658 (7), sel HL-60 manusia (8) dengan menghambat aktivasi NF-kappaB. Seluruh mekanisme tersebut tidak memberikan efek toksik terhadap

hewan uji maupun manusia. Uji toksikologi pada beberapa jenis hewan uji menyatakan bahwa herba sambiloto mengandung komponen aktif yang aman dan memiliki toksisitas rendah (1).

METODE

Metode yang digunakan adalah studi literatur. Studi literatur dilakukan menggunakan *browser* dan situs pencarian dengan kata kunci andrografolid, dosis, dan hewan uji yang digunakan (tikus, mencit, kelinci, hingga manusia). Pencarian dengan kata kunci ini dilakukan baik dalam Bahasa Indonesia maupun Bahasa Inggris. Kriteria inklusi yang digunakan meliputi (a) Pustaka primer harus mengandung bahasan dari kata kunci yang dicari serta (b) Pustaka primer maksimal 10 tahun terakhir untuk sumber primer. Kriteria eksklusi meliputi tahun penerbitan pustaka primer tidak boleh lebih dari 10 tahun untuk sumber primer. Pencarian tersebut menghasilkan 38 pustaka yang dikerucutkan menjadi 21 pustaka. Selain itu, terdapat beberapa literatur yang lebih dari 10 tahun dan digunakan hanya sebagai informasi

penunjang dengan menggunakan metode *trace back* yakni studi literatur dari salah satu pustaka hingga ke pustaka yang paling awal.

HASIL

Tabel 1. Dosis Uji Andrografolid pada Berbagai Hewan Uji (9) (10) (11) (12)

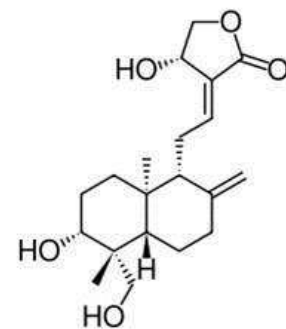
No	Hewan Uji	Dosis	Parameter Uji
1	Mencit	4 mg/kg BB	-
2	Tikus jenis Wistar	20 mg/kg BB	t_{maks} sebesar $2,41 \pm 0,15$ jam, $C_{maks} = 1,273 \pm 0,2$ ppm, dan AUC $7,09 \pm 1,55$ $\mu\text{g/ml/jam}$
3	Kelinci ras New Zealand	7,04 g/kg BB secara peroral,	t_{maks} : 1,5 jam, C_{maks} : 0,2136 ppm AUC: 0.434 $\mu\text{g/ml/jam}$
	Kelinci ras New Zealand	kapsul setara dengan 6,3 mg kurkumin dan 6,3 mg andrografolid	t_{maks} : 1-1,5 jam, C_{maks} : 3,060 - 4,410 ppm, AUC 0.480 = 541,0575-684,8413 pg.ml/menit
4	Manusia	12 mg/kg BB	t_{maks} : 1,5-3 jam

PEMBAHASAN

Struktur dan Sifat Fisikokimia

Andrografolid ($\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_5$) adalah komponen aktif yang merupakan golongan trihidroksilakton dan mengandung diterpen

lakton sehingga mudah larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, dan aseton; juga dalam pelarut non organik seperti asam piridin dan asam asetat. Namun, andrografolid sedikit larut dalam eter dan air. Adanya cincin benzen menyebabkan tingginya titik leleh andrografolid, yaitu $228-230^\circ\text{C}$. Sifat fisika lainnya adalah spektrum ultraviolet dalam etanol dengan panjang gelombang maksimum 223 nm (13).



Gambar 1. Struktur Andrografolid

Analisis Kualitatif dan Kuantitatif

Andrografolid dapat diidentifikasi dengan secara kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Fase gerak berupa kloroform : metanol (9 : 1) dan dideteksi pada sinar ultraviolet 254 nm dan 366 nm (14).

Analisis kuantitatif menggunakan kromatografi atau spektrofotometri.

Analisis andrografolid dengan kromatografi lapis tipis kinerja tinggi (KLTKT) menggunakan silika gel-F254 dan linomat serta fase gerak kloroform : metanol (9:1). Deteksi dan kuantifikasi bercak dilakukan dengan *Densitometer Scanner* Camag-Wincat 4 pada panjang gelombang maksimal 230 nm.

Aktivitas Anti inflamasi

Andrografolid dilaporkan memiliki banyak aktivitas farmakologis, dan paling berpotensi untuk dikembangkan adalah andrografolid sebagai anti inflamasi. Sampel yang mengandung andrografolid 14,3 mg dalam 10 ml metanol mengandung 30% andrografolid secara konsisten, dengan rata-rata waktu retensi 32,2 menit dengan jangkauan kesalahan $\pm$ 2,1% dari waktu retensi, kisaran 27,5-35,9%; n = 12; pada puncak ke 12 dari 28 puncak.

Inflamasi disebabkan oleh zat asing yang masuk ke dalam tubuh, seperti bakteri. Pada bakteri Gam negatif, terdapat LPS (lipopolisakarida) sebagai penyusun dinding sel bakteri. Jika LPS masuk ke dalam tubuh maka akan memberikan

reaksi seperti sekresi sitokin pro-inflamasi, ekspresi faktor koagulasi, dan aktivasi makrofag (15).

Ekspresi faktor koagulasi ini dapat menyebabkan DIC (*Disseminated Intravascular Coagulation*) yang dapat membahayakan hidup. Pada DIC, sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan meliputi TNF- α dan IL-1 β (16). Pemberian andrografolid pada kelinci dapat menghambat ekspresi TNF- α dan IL-1 β dan meningkatkan laju kelangsungan hidup menjadi 60% pada 6 jam pertama dan 40% pada 24 jam pertama. Sedangkan pada lingkungan yang tidak dipengaruhi faktor koagulasi dengan pemberian heparin, laju juga meningkat menjadi 70% selama 24 jam pertama. Selain itu, andrografolid dapat menurunkan tingkat BUN (*Blood Urea Nitrogen*) dalam serum darah sebesar $p < 0,01$ pada dosis 100 mg/kg/jam sehingga dapat mengurangi kerusakan ginjal karena adanya LPS (17). Nilai IC₅₀ andrografolid sebagai antiinflamasi terhadap inhibisi TNF- α dan IL-1 β adalah 21,9 μ M (n = 3; interval (kepercayaan 95%) = 18,1-26,5 μ M) (18).

Kelebihan andrografolid sebagai antiinflamasi adalah kemampuannya sebagai gastroprotektif yang tidak ditemukan pada penggunaan NSAID karena merusak *gastrointestinal* akibat penghambatan *cyclooxygenase 2* (COX 2). Menurut penelitian yang dilakukan secara *in vivo*, andrografolid akan bekerja terhadap COX-2 setelah membentuk ikatan hidrogen dengan situs pengikatan Arg513 dengan SC-558 pada andrografolid. Ikatan ini merupakan ikatan yang baik dan menguntungkan dengan energi yang kecil yaitu -10,7717 hingga -11,7963 kkal/mol (6).

Andrografolid bekerja sebagai gastroprotektif dengan meningkatkan ketahanan mukosa lambung terhadap asam sehingga menghasilkan efek gastroprotektif terhadap induksi ulkus oleh etanol. Efek ini menyebabkan mukus dalam jumlah lebih pada jaringan lambung hewan uji. Selain itu, andrografolid juga bekerja dengan menurunkan jumlah pepsin dalam cairan asam lambung secara signifikan (19). Andrografolid bekerja setara dengan ranitidin yang merupakan

obat golongan histamin H_2 *receptor blocker* dengan menekan aktivitas H^+-K^+ ATPase yang berperan dalam mencerna protein makanan (20).

Penurunan pepsin dan H^+-K^+ ATPase mengakibatkan peningkatan pH lambung pada pasien ulserasi sehingga andrografolid dapat bersifat gastroprotektif dan antiulser. Penelitian lain menyatakan bahwa *Andrographolide Sodium Bisulfite* (ASB) dapat meningkatkan PGE2 (prostaglandin E2) lambung, GSH (*Gastric Mucosal Glutathione*), CAT (*catalase*) dan SOD (*superoxide dismutase*) secara signifikan sementara tingkat MDA (*malonaldehyde*) menurun (21). Meningkatnya PGE2 akan meningkatkan kadar mukus sebagai faktor proteksi lambung sehingga dengan meningkatnya PGE2 akan mengurangi terjadinya iritasi pada lapisan mukosa lambung ataupun terjadinya ulserasi (22).

Bioavaibilitas

Bioavaibilitas merupakan salah satu parameter penting dalam pembuatan sediaan farmasi. Dari bioavaibilitas, dapat diperoleh nilai atau laju suatu metabolit

beredar secara sistemik dalam sirkulasi tubuh manusia dan berikatan dengan target aksi (23). Nilai bioavailabilitas terdiri atas t_{maks} , C_{maks} , dan AUC yang bergantung pada jenis hewan yang digunakan dalam penelitian juga cara pemberiannya. Pada kelinci ras *New Zealand* dengan pemberian kapsul yang setara dengan 6,3 mg kurkumin dan 6,3 mg andrografolid secara peroral, diperoleh nilai t_{maks} sebesar 1-1,5 jam, $C_{maks} = 3,06-4,41$ ppm, dan AUC $0,48 = 541,058-684,841$ pg.ml/menit. Nilai ini diperoleh dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) tipe Agilent 1100 series kolom Nucleodur C18; fase gerak metanol : air = 60:40 terhadap campuran andrografolid dan kurkumin dari kunyit (12).

Pada penelitian Himawati (2011), penggunaan metanol : air dengan perbandingan 60 : 40 terhadap analisis andrografolid tunggal 7,04 g/kg BB secara peroral, diperoleh nilai t_{maks} sebesar 1,5 jam, $C_{maks} = 0,2136$ ppm, dan AUC = $0,434$ µg/ml/jam (11).

Hasil penelitian Pinthong (1991) pada tikus jenis *Wistar* memberikan nilai

C_{maks} 1,76 µg/ml dan t_{maks} 2,04 jam setelah pemberian oral (24). Sedangkan studi yang lebih baru pada tahun 2000 menyatakan bahwa perbandingan dosis 20 mg/kg BB dengan 200 mg/kg BB secara peroral, maka andrografolid dengan dosis 20 mg/kg BB memiliki nilai bioavailabilitas yang jauh lebih baik sebesar 91% berbanding 21,4%. Dari nilai bioavailabilitas yang baik tersebut diperoleh parameter lainnya berupa t_{maks} sebesar $2,41 \pm 0,15$ jam, $C_{maks} = 1,273 \pm 0,2$ ppm, dan AUC = $7,09 \pm 1,55$ µg/ml/jam (10).

Pada penelitian menggunakan mencit, diperoleh dosis efektif sebesar 4 mg/kg BB untuk mengurangi volume kaki mencit sebesar 5% yang diinduksi oleh karagenan jika dibandingkan dengan DMSO (dimetil sulfoksida) (9). Penyakit demielinasi inflamasi dari sistem saraf pusat dan ensefalitis autoimun dapat dicegah dengan menghambat sel T oleh andrografolid (25).

Tabel 1 menunjukkan bahwa andrografolid memiliki bioavailabilitas yang baik pada hewan uji. Hal ini dikarenakan andrografolid cepat diabsorpsi tubuh,

didistribusikan dan dimetabolisme dengan baik oleh tubuh. Uji lanjut dilakukan dengan menggunakan manusia sebagai relawan pada dosis 12 mg/kg BB (10). Pada manusia, andrografolid diabsorpsi secara umum dengan cepat selama 25 menit. Namun, nilai t_{maks} yang diperoleh memiliki jangkauan yang cukup besar yaitu antara 1,5-3 jam setelah pemberian secara peroral. Setelah 3-4 jam pemberian, andrografolid mulai dieliminasi dan pada jam ke-8 andrografolid sudah tidak ditemukan di dalam darah. Rentang nilai parameter bioavailabilitas yang lebar disebabkan oleh proses perbedaan metabolisme pada setiap individu relawan terutama pada karena adanya ikatan dengan protein ketika andrografolid sedang dimetabolisme.

KESIMPULAN

Andrografolid sebagai komponen aktif sambiloto berpotensi sebagai anti inflamasi dengan berbagai mekanisme kerja.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan

dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Widyawati T. Aspek Farmakologi Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) (PDF Download Available): OAI; 2016 [cited 2016 6 June]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/45192828_Aspek_Farmakologi_Sambiloto_Andrographis_paniculata_Nees.
2. Lukas R. Rahasia Jerbalis Cina, Ramuan Tanaman Obat Cina. Jakarta: Pustaka Delapratasa; 1998.
3. Abcam. Andrographolide | Abcam: *Andrographis paniculata*; 2016 [cited 2016 6 June]. Available from: <http://www.abcam.com/Andrographolide-ab120636.html>.
4. Chiou WF, Chen CF, Lin JJ. Mechanisms of suppression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in RAW 264.7 cells by andrographolide. *Br J Pharmacol*. 2000;129(8):1553-60.

5. Shen YC, National Research Institute of Chinese Medicine Li-Nung Street Section Shih-Pai Taipei Taiwan, Chen Chieh-Fu, National Research Institute of Chinese Medicine Li-Nung Street Section Shih-Pai Taipei Taiwan, Institutes of Pharmacology School of Life Science National Yang-Ming University Li-Nung Street Section Shih-Pai Taipei Taiwan, Chiou WF, et al. Andrographolide prevents oxygen radical production by human neutrophils: possible mechanism(s) involved in its anti-inflammatory effect. *British Journal of Pharmacology*. 2016;135(2):399-406.
6. Levita JN, As'ari; Mutholib, Abdul; and Ibrahim, Slamet. Andrographolide Inhibits COX-2 Expression in Human Fibroblast Cells Due to its Interaction with Arginine and Histidine in Cyclooxygenase Site. *Journal of Applied Sciences* 2010;10 (14)(1481-1484).
7. Jian-Guo Geng Y-FX, Bu-Qing Y, Yi-Dan L, Jian-Guo W, Xiang-Jiu H, Xianfeng L, et al. Andrographolide Attenuates Inflammation by Inhibition of NF- κ B Activation through Covalent Modification of Reduced Cysteine 62 of p50. 2004.
8. Hidalgo MA, Romero A, Figueroa J, Cortés P, Concha, II, Hancke JL, et al. Andrographolide interferes with binding of nuclear factor- κ B to DNA in HL-60-derived neutrophilic cells. *Br J Pharmacol*. 2005;144(5):680-6.
9. Suebsasana S, Pongnaratorn P, Sattayasai J, Arkaravichien T, Tiamkao S, Aromdee C. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory and toxic effects of andrographolide derivatives in experimental animals. *Archives of pharmacol research*. 2009;32(9):1191-200.
10. A. Panossian AH, G. Mamikonyan, H. Abrahamian, E. Hambardzumyan, E. Gabrielianl GG, G. Wikman and H. Wagner. Pharmacokinetic and oral bioavailability of andrographolide from *Andrographis paniculata* fixed combination Kan Jang in rats and

- human. *Phytomedicine* 2000;Vol. 7(5). pp. 351-364.
11. Himawati H. Ketersediaan Hayati Andrografolid dalam Infusa Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.)) pada Plasma Kelinci Sehat, Pustaka Ilmiah Universitas Padjadjaran 2016 [cited 2016 6 June]. Available from: <http://pustaka.unpad.ac.id/archives/116999>.
 12. Budipramana K. Penentuan Parameter Bioavailabilitas Andrografolida dan Kurkumin dari Campuran Ekstrak Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) dan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dalam Serum Kelinci. 2011.
 13. Kumoro ACH, M. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Andrographolide from *Andrographis paniculata*: Effect of the Solvent Flow Rate, Pressure, and Temperature. *China Journal of Chemical Engineering*. 2007;Vol 15(877-883).
 14. Sukardiman AR, Wiwied Ekasari, dan Siswindari. Induksi Apoptosis Andrografolida dari Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap Kultur Sel Kanker. . *Jurnal Media Kedokteran Hewan*. 2005;Vol.21, No.3:107.
 15. Kruzel ML, Harari Y, Chen CY, Castro GA. Lactoferrin protects gut mucosal integrity during endotoxemia induced by lipopolysaccharide in mice. *Inflammation*. 2000;24(1):33-44.
 16. Yang M, Cao L, Xie M, Yu Y, Kang R, Yang L, et al. Chloroquine inhibits HMGB1 inflammatory signaling and protects mice from lethal sepsis. *Biochemical pharmacology*. 2013;86(3):410-8.
 17. Chen J, Lu C, Wu Z, Liao Y, Liu J, Xiang N, et al. Andrographolide had Positive Effects on Anti-inflammatory and Protected Against LPS-induced DIC in Rabbits. *International Journal of Pharmacology*. 2016.
 18. Low M, Khoo CS, Munch G, Govindaraghavan S, Sucher NJ. An in vitro study of anti-inflammatory activity of standardised *Andrographis paniculata* extracts and pure

- andrographolide. BMC complementary and alternative medicine. 2015;15:18.
19. Saranya P, Geetha A, Selvamathy SM. A biochemical study on the gastroprotective effect of andrographolide in rats induced with gastric ulcer. Indian journal of pharmaceutical sciences. 2011;73(5):550-7.
 20. Wolfe MM, Sachs G. Acid suppression: optimizing therapy for gastroduodenal ulcer healing, gastroesophageal reflux disease, and stress-related erosive syndrome. Gastroenterology. 2000;118(2 Suppl 1):S9-31.
 21. Liu YH, Zhang ZB, Zheng YF, Chen HM, Yu XT, Chen XY, et al. Gastroprotective effect of andrographolide sodium bisulfite against indomethacin-induced gastric ulceration in rats. International immunopharmacology. 2015;26(2):384-91.
 22. Mateos-Aparicio I, Redondo Cuenca A, Villanueva-Suarez MJ, Zapata-Revilla MA. Soybean, a promising health source. Nutricion hospitalaria. 2008;23(4):305-12.
 23. Chereson R. Basic Pharmacokinetics Chapter 8: Bioavailability, Bioequivalence and Drug Selection. . Nebraska: The Virtual University Press; 1996. 8-2;8-3. p.
 24. Pinthong T. BC, Mounhong A., Koysooku R. . HPLC Determina-tion of Andrographolide, Neoandrographolide and Dehydro-andrographolide in Biological Fluids. . Siriraj Hosp Gaz. 1991;43(10): 763.
 25. Iruretagoyena MI, Tobar JA, Gonzalez PA, Sepulveda SE, Figueroa CA, Burgos RA, et al. Andrographolide interferes with T cell activation and reduces experimental autoimmune encephalomyelitis in the mouse. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 2005;312(1):366-72.