

Penentuan kandungan andrographolid dalam hempedu bumi

(Determination of andrographolide in *hempedu bumi*)

Sharizan Ahmad, Zaharah Ariffin, Ariff Zaidi Jusoh,
Hasnisa Hashim, Mohd Nazrul Hisham Daud, Jeeven Karruppan,
Syahida Maarof dan Nor Fadhilah Sapiee

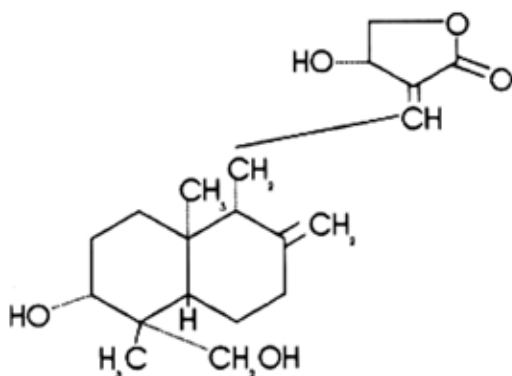
Pengenalan

Andrographis paniculata atau hempedu bumi (*Gambar 1*) merupakan tanaman ubatan yang telah lama digunakan oleh penduduk kawasan Asia termasuk China, India dan Asia Tenggara untuk mengubati pelbagai jenis penyakit seperti tekanan darah tinggi, ulser, demam dan kencing manis. Ia juga merupakan tumbuhan ubatan yang mempunyai kandungan toksik yang paling rendah dan telah digunakan untuk kajian bagi penentuan sifat analgesik, antitrombotik (mengelakkan pembekuan darah), trombolitik (mencairkan darah beku dan melancarkan peredaran darah), hipoglisemik (merendahkan tahap gula dalam darah – rawatan untuk diabetes) dan antipiritik (merawat demam). Hempedu bumi juga dikenali dengan nama pokok akar cerita dan merupakan sejenis tumbuhan herba semusim yang tumbuh menegak. Tingginya boleh mencapai 60 – 70 cm. Hempedu bumi tergolong dalam famili Acanthacea yang mempunyai batang empat segi, daun yang berwarna hijau pekat, licin dan tersusun secara bersilang. Daun hempedu bumi juga mempunyai bentuk bujur, runcing di hujung dan nipis di pangkal dan mudah didapati di kawasan tanah lanar sungai, tepi pantai, kawasan berbukit, tanah terbiar dan padang rumput.



Gambar 1. Pokok hempedu bumi

Terdapat tiga komponen aktif utama yang menyumbang kepada aktiviti terapeutik bagi pokok hempedu bumi yang terdiri daripada andrographolid dan terbitannya iaitu deoksiandrographolid dan neoandrographolid. Bagi kebanyakan pokok, kumpulan triterpine ditemui sebagai resin dan getah yang ditemui pada batang pokok. Kumpulan ini merupakan kumpulan bahan kimia yang terdapat di dalam pokok yang berfungsi sebagai penghalang kepada serangan serangga perosak. Andrographolid (*Gambar rajah 1*) yang berpotensi sebagai agen antikanser, antiradang dan antivirus ini terdiri daripada kumpulan diterpene laktone dan ia merupakan kristal jernih yang tidak berwarna dan mempunyai rasa pahit. Kajian terbaru juga



Gambar rajah 1. Struktur molekul andrographolid

menunjukkan bahawa kumpulan andrographolid ini berupaya untuk bertindak sebagai bahan antiradang dan mempunyai kesan hipoglisemik yang baik sama seperti galaktosamine dan parasetamol.

Bagi tujuan perubatan dan farmaseutikal, keseluruhan batang dan daun telah digunakan dalam ramuan perubatan kerana kandungan andrographolid terdapat di dalam daun dan batang pokok hempedu bumi. Berdasarkan kepentingan bagi tujuan perubatan,

beberapa peralatan analisis telah dicipta bagi analisis kandungan andrographolid dan terbitannya. Antaranya menggunakan kaedah gravimetrik, kalorimetrik, titrimetrik, *micellar* elektrokinetik dan *high speed counter current*. Bagi penentuan sebatian aktif secara kualitatif dan kuantitatif, penggunaan peralatan kromatografi cecair (LC) dan kromatografi cecair prestasi tinggi (HPLC) dengan alat pengesan ultra lembayung merupakan kaedah yang tepat dan menjimatkan masa.

Proses pengekstrakan bahan aktif dalam hempedu bumi

Pokok hempedu bumi diperoleh daripada beberapa kawasan di sekitar Bachok, Kelantan. Daun dan batang ditinggalkan terlebih dahulu sebelum proses pengeringan dilakukan pada suhu 48 °C selama 48 jam. Kemudian sampel dikisar menggunakan pengisar bagi menghasilkan partikel-partikel kecil dan disimpan di dalam bekas kedap udara sebelum proses analisis seterusnya dilakukan. Pengekstrakan sebatian kimia aktif dilakukan dengan mencampurkan 200 mg sampel daun dan batang hempedu bumi dengan pelarut metanol di dalam kelalang kon berisi padu 50 ml yang ditutup dengan kertas aluminium. Sampel kemudiannya digoncang selama 5 jam. Campuran larutan kemudiannya dituras dan dimasukkan ke dalam *vial* sebelum proses analisis menggunakan HPLC.

Penentuan andrographolid menggunakan HPLC

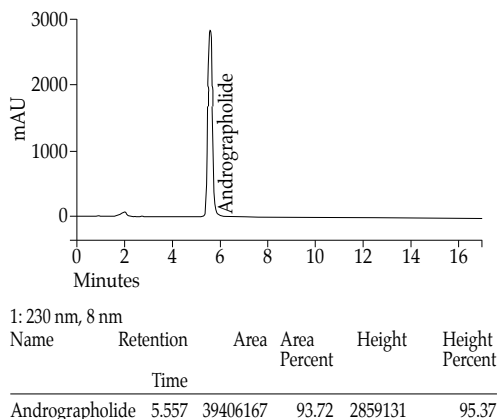
Peralatan HPLC yang digunakan terdiri daripada model Shimadzu Class VP dan dilengkapi pengesan ultra lembayung berserta penyuntik automatik yang boleh diubah suai isi padunya. Pelarut dan air ternyahion yang digunakan terlebih dahulu dituras. Kolum pemisah jenis LiChrospher 100 RP-18, 5 µm (250 mm x 4 mm i.d) digunakan bagi analisis kandungan andrographolid. Komposisi fasa gerak terdiri daripada asetonitril dan air (68 : 32, v/v). Kadar alir fasa gerak ditetapkan sebanyak 1 ml/min, jarak gelombang pengesan 230 nm dan suhu kolum 25 °C telah ditetapkan sepanjang analisis dilakukan dan sebanyak 10 µl isi padu yang diperlukan untuk setiap analisis.

Secara kimia, kumpulan terpenoid ialah kumpulan lipid yang mudah larut di dalam pelarut yang mempunyai berat molekul yang rendah seperti petroleum, eter dan kloroform. Kumpulan ini banyak ditemui di bahagian sitoplasma di dalam sel tumbuhan. Kebanyakan kumpulan ini tidak berwarna dan proses penentuan secara mikroskala adalah agak sukar. Bagi tujuan ini, penggunaan HPLC dengan sistem pengesan ultra lembayung berserta dengan kolom fasa berbalik (*reverse phase column*) merupakan satu kaedah yang sesuai bagi penentuan kandungan andrographolid yang berupaya menghasilkan data secara kualitatif dan kuantitatif dengan hanya satu operasi analisis. Dalam kaedah ini, analisis melibatkan dua fasa utama iaitu fasa pegun yang terdiri daripada polimer yang berliang dan telah dipadatkan di dalam kolom yang mempunyai salur bukaan sempit untuk laluan masuk dan keluar. Fasa berikutnya terdiri daripada fasa gerak dan larutan akan melalui kolom tersebut dengan tekanan tertentu.

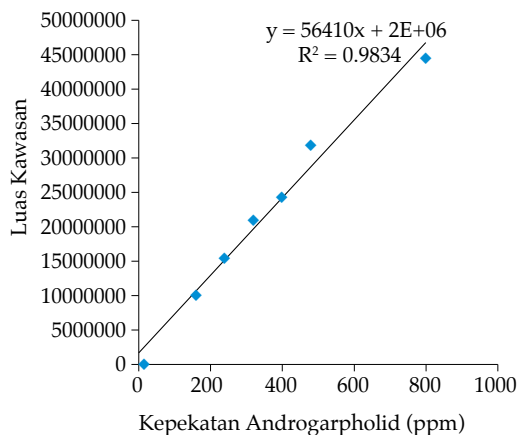
Rajah 1 menunjukkan kromatogram bagi sampel piawai andrographolid yang berkepekatan 769 ppm. Masa penahanan bagi andrographolid untuk dikesan ialah 5.55 minit. Bagi penentuan secara kuantitatif, graf kalibrasi piawai dibangunkan daripada analisis larutan stok piawai andrographolid yang berkepekatan 160, 239, 319, 399, 479 dan 796 mg/liter (ppm). Rajah 2 menunjukkan graf kalibrasi yang baik di mana nilai R^2 menghampiri nilai 1. Graf kalibrasi ini digunakan dalam menentukan kepekatan sebenar andrographolid di dalam sampel hempedu bumi yang dikaji.

Kandungan andrographolid di dalam batang dan daun hempedu bumi

Jadual 1 menunjukkan jumlah kandungan andrographolid bagi setiap gram sampel kering daun dan batang hempedu bumi. Sebanyak sembilan sampel telah dianalisis. Daripada data yang telah diperoleh, kandungan andrographolid di dalam daun adalah tinggi bagi semua sampel pokok yang telah dianalisis berbanding dengan batang. Mengikut kajian yang pernah dilakukan pada tahun 2001, kandungan andrographolid di dalam daun adalah lebih tinggi berbanding dengan batang.



Rajah 1. Kromatogram analisis HPLC sampel piawai andrographolid



Rajah 2. Graf kalibrasi andrographolid piawai

**Perbandingan kandungan andrographolid di dalam daun
hempedu bumi yang ditanam di kawasan berlainan jenis tanah**

Jadual 2 menunjukkan kandungan andrographolid di dalam daun bagi sampel hempedu bumi yang ditanam menggunakan dua jenis tanah iaitu tanah bris dan tanah selut. Bahagian daun telah dipilih berbanding dengan batang kerana kandungan andrographolid banyak terdapat di dalam daun berbanding dengan bahagian lain pokok hempedu bumi. Daripada data yang diperoleh, kandungan andrographolid dalam semua daun yang dianalisis adalah tinggi

bagi pokok hempedu bumi yang ditanam menggunakan tanah selut berbanding dengan tanah bris. Ini menunjukkan tanah selut lebih sesuai untuk tanaman hempedu bumi memandangkan kandungan sebatian aktif yang dikesan adalah lebih tinggi.

Kesimpulan

Kandungan andrographolid di dalam batang dan daun hempedu bumi boleh dianalisis secara tepat dan cepat menggunakan peralatan HPLC yang memerlukan masa yang singkat iaitu selama 5.5 minit.

Jadual 1. Kandungan andrographolid di dalam batang dan daun di tanah selut bagi sampel yang ditanam

Sampel	Adrographolid (mg/g) di dalam batang	Adrographolid (mg/g) di dalam daun
a	3.02	5.98
b	-	8.89
c	0.30	17.32
d	0.57	12.65
e	1.74	18.99
f	3.01	15.68
g	-	5.23
h	4.09	13.35
i	1.64	16.78

Jadual 2. Kandungan andrographolid di dalam daun bagi sampel yang ditanam di atas tanah bris dan tanah selut

Sampel	Adrographolid (mg/g) tanah bris	Sampel	Adrographolid (mg/g) tanah selut
Telong A	0.60	Kaduk A	6.08
Telong B	9.81	Kaduk B	12.89
Telong C	2.41	Kaduk C	18.92
Telong D	11.03	Kaduk D	15.49
Telong E	13.71	Kaduk E	19.34
Telong F	16.79	Kaduk F	23.80
Telong G	2.74	Kaduk G	4.85
Telong H	12.54	Kaduk H	13.74
Telong I	16.65	Kaduk I	21.63
Telong J	3.89	Kaduk J	7.54
Telong K	9.95	Kaduk K	13.33
Telong L	11.90	Kaduk L	13.64
Telong M	6.70	Kaduk M	6.73
Telong N	12.48	Kaduk N	21.33
Telong O	8.50	Kaduk O	25.23
Telong P	4.84	Kaduk P	4.24
Telong Q	14.57	Kaduk Q	19.81
Telong R	19.03	Kaduk R	22.32

Hasil analisis menunjukkan kandungan andrographolid di dalam daun adalah tinggi berbanding dengan batang pokok hempedu bumi. Walau bagaimanapun, bagi tujuan perubatan keseluruhan pokok boleh digunakan kerana kandungan andrographolid tertabur di keseluruhan pokok tersebut. Bagi kajian perbandingan kesesuaian tanah pula, didapati tanah selut telah menghasilkan kandungan andrographolid yang tinggi berbanding dengan tanah bris. Walau bagaimanapun, keadaan ini mungkin dapat diatasi sekiranya profil tanah di sekitar kawasan tanah bris ditingkatkan dengan penggunaan baja dan saliran yang baik bagi menghasilkan tanaman hempedu bumi yang berkualiti.

Penghargaan

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada kerajaan Malaysia dan MARDI kerana memberi peruntukan kewangan (projek 1900301641) bagi menjayakan kajian ini. Setinggi-tinggi penghargaan juga buat kumpulan penyelidik dan ahli-ahli kumpulan kerja yang terlibat secara langsung dan tidak langsung dalam kajian ini.

Bibliografi

- Cheung, H.Y., Cheung, C.S. dan Kong, C.K. (2001). Determination of bioactive diterpenoids from *Andrographis paniculata* by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A* 930: 171 – 176
- Du, Q., Jerz, G. dan Winterhalter, P. (2003). Separation of andrographolide and neoandrographolide from the leaves of *Andrographis paniculata* using high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A* 984: 147 – 151
- Govindachari, T.R., Suresh, G., Gopalkrishnan, G., Daniel Wesley, S. dan Pradeep, N.D. (1999). Antifeedant activity of some diterpenoids. *Fitoterapia* 70: 269 – 274
- Harborne, J.B. (1984). *Phytochemicals methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. London: Chapman and Hall
- Indu Bala, J. dan Teik, N.L. (2002). *Herbs: the green pharmacy of Malaysia*. Kuala Lumpur: Vinpress Sdn. Bhd.
- Indu Bala, J., Samiyah, M.N., Razali, A.R. dan Muthuvelu, C. (2001). *Potential herbs of Malaysia*. Serdang: MARDI
- Jain, D.C., Gupta, M.M., Saxena, S. dan Kumar, S. (2000). LC analysis of hepatoprotective diterpenoids from *Andrographis paniculata*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 22: 705 – 709
- Zaharah, A., Musa, Y., Wan Zaki, W.M., Yahaya, H. dan Sharizan, A. (2003). *Pengeluaran hempedu bumi (Andrographis paniculata)*. Serdang: MARDI

Ringkasan

Andrographis paniculata atau dikenali sebagai hempedu bumi berasal daripada famili Acanthaceae dan digunakan sejak berabad lama di Asia bagi merawat pelbagai jenis penyakit. Komponen utama di dalam pokok *Andrographis paniculata* ialah andrographolid yang mempunyai rasa pahit, berbentuk kristal, tidak berwarna dan merupakan kumpulan diterpene lakton. Penentuan kandungan andrographolid telah dilakukan dengan menggunakan kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC). Proses pengekstrakan komponen aktif melibatkan kaedah pengekstrakan rendaman menggunakan metanol sebagai pelarut. Analisis telah dilakukan menggunakan kolom fasa berbalik LiChrospher RP-18 (250 mm x 4 mm i.d) dan fasa gerak terdiri daripada asetonitril dan air. Didapati kandungan andrographolid di dalam daun adalah tinggi berbanding dengan batang dan penanaman di atas tanah selut memberi kandungan andrographolid yang tinggi di dalam daun berbanding dengan tanah bris.

Summary

Andrographis paniculata commonly known as 'hempedu bumi' is a one of the plants from family Acanthaceae, and has been used for centuries in Asia to treat a number of diseases. The primary active component of *Andrographis paniculata* is andrographolide, which has a very bitter taste, colorless crystal and named diterpene lactone. Determination of andrographolide content inside the hempedu bumi stems and leaves were carried out using high performance liquid chromatography (HPLC). The extraction process of active components involved cold extraction using methanol as a solvent. Analysis of andrographolide content was done using a RP-C18 LiChrospher reverse phase column (250 mm x 4 mm i.d) and a mobile phase consisting of acetonitrile and water. The content of andrographolide inside the leaves is higher than the stems, and is also higher in hempedu bumi cultivated in clay soil compared to bris soil.

Pengarang

Sharizan Ahmad

Pusat Penyelidikan Sains Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,

Persiaran MARDI-UPM 43400 Serdang, Selangor

E-mel: sharizan@mardi.gov.my

Zaharah Ariffin

MARDI Bachok, Kampong Aur, Mukim Telong Jalan Kandis,

16310 Bachok, Kelantan

Arif Zaidi Jusoh, Hasnisa Hashim, Mohd Nazrul Hisham Daud, Jeeven Karruppan,

Syahida Maarof dan Nor Fadhilah Saptee

Pusat Penyelidikan Sains Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,

Persiaran MARDI-UPM 43400 Serdang, Selangor