



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ARTEMISININ DARI
Artemisia annua L. BUDIDAYA LOKAL**

SKRIPSI

AHMAD SENJAYA

0806364385

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
DESEMBER 2010**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ARTEMISININ DARI
Artemisia annua L. BUDIDAYA LOKAL**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

AHMAD SENJAYA

0806364385

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
DESEMBER 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan benar.**

Nama Ahmad Senjaya

NPM 0806364385

Tanda Tangan

Tanggal

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Ahmad Senjaya
NPM : 0806364385
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Isolasi dan Karakterisasi Artemisinin dari
Artemisia annua L. Budidaya Lokal.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Berna Elya, M.Si. (.....)
Pembimbing II : Dipl.-Ing. Haznan Abimanyu, PhD (.....)
Penguji I : Prof. Dr. Endang Hanani (.....)
Penguji II : Dr. Amarila Malik, MSc (.....)
Penguji III : Dra. Sabarijah WE, SKM (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : Desember 2010

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas kuasa dan pertolongan-Nya dalam penulisan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak sekali mendapat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan kali ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Dr. Berna Elya, M.Si. selaku pembimbing I dan Dipl.-Ing. Haznan Abimanyu, PhD selaku pembimbing II skripsi yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian ini, serta banyak memberikan bimbingan, ilmu, saran, motivasi dan bantuan lainnya yang sangat bermanfaat selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Dr. Abdul Mun'im, MS, Apt. selaku Ketua Program Sarjana Farmasi Ekstensi Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Dr. Nelly Dhevita Leswara M.Sc., Apt. selaku pembimbing akademis yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Prof Dr. L.B. Broto Kardono selaku Kepala LIPI Kimia Serpong, atas kesempatan yang diberikan untuk melakukan penelitian di Laboratorium LIPI Kimia Serpong.
6. Dr. Katrin selaku Ketua Laboratorium Fitokimia yang telah memberikan izin menggunakan tempat dan fasilitas yang ada di Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi FMIPA UI.
7. Seluruh dosen/staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI, terutama atas ilmu pengetahuan, motivasi, dan inspirasinya.

8. Seluruh pegawai dan laboran Departemen Farmasi UI atas bantuannya selama penulis melakukan penelitian.
9. Keluargaku tercinta, Papa dan mama tersayang terima kasih atas doa yang tiada henti, kesabaran, pengorbanan, kasih sayang, waktu yang telah diberikan, dan inspirasi yang memberikan keyakinan untuk menghadapi masalah. Kakaku Raind Rudi dan adik-adikku tercinta Zainal, Bustami, dan Afi. Terima kasih atas pengertian dan perhatiannya.
10. Sahabat-sahabatku Windu, Dedy Afkha, Nanda, Yudho, Sony, Dedi Rifandi, Ahmad Zaki, Bagus Wahyudi, dan Budi Anduk. yang selalu memberikan bantuan dan semangat kepada penulis.
11. Mbak Deliana, Mas Sudi, Mas Fauzan, Kak Marisa, dan Mbak Anis. Terima kasih atas bimbingannya selama penulis melakukan penelitian di LIPI Kimia, Serpong.
12. Teman-teman penelitian di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA UI serta teman-teman Ekstensi Farmasi UI 2008 atas kebersamaan, kerjasama, suka duka, dukungan, semangat, dan bantuan yang diberikan kepada penulis.
13. Pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu namun sangat berarti bagi penulis, terima kasih atas dukungan dan perhatiannya.

Penulis berharap laporan ini dapat bermanfaat kelak untuk semua pihak yang berkepentingan. Penulis memohon maaf jika ada kesalahan dalam penulisan skripsi ini.

Penulis

2010

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ahmad Senjaya
NPM : 0806364385
Program Studi : Sarjana Ekstensi Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Isolasi dan Karakterisasi Artemisinin dari *Artemisia annua L.*

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal :

Yang menyatakan

(Ahmad Senjaya)

ABSTRAK

Nama : Ahmad Senjaya
Program Studi : Farmasi Ekstensi
Judul : Isolasi dan Karakterisasi Artemisinin dari *Artemisia annua L.*
Budidaya Lokal.

Artemisinin merupakan sesquiterpen lakton yang terdapat pada daun dan bunga tanaman *Artemisia annua L.* Artemisinin adalah obat antimalaria yang memiliki struktur kimia yang berbeda dan memiliki efikasi yang lebih tinggi. *Artemisia annua L.* adalah tanaman asli daerah subtropis dan dapat diintroduksi ke daerah tropis seperti Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan karakterisasi artemisinin dari *Artemisia annua L.* yang dibudidaya di Lembang, Indonesia. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metanol, kemudian dipartisi dengan heksan, dan proses pemisahan secara kromatografi kolom dengan eluen etil asetat/heksan. Isolat dikarakterisasi dengan menggunakan KLT, FTIR, spektrofotometer UV, dan spektroskopi HNMR. Diperoleh S₄ sebagai hasil isolasi fraksi heksan, sejumlah 2,0 mg (0,016% b/b) yang memiliki karakter mirip dengan artemisinin.

Kata kunci : Artemisinin, isolasi, karakterisasi, *Artemisia annua L.*, malaria
xv + 51 hal : 21 gambar, 5 tabel, 2 lampiran
Bibliografi : 32 (1985-2010)

ABSTRACT

Nama : Ahmad Senjaya
Program Studi : Farmasi Ekstensi
Judul : Isolation and Characterization of Artemisinin From Local
Cultivation of *Artemisia annua L.*

Artemisinin is a sesquiterpene lactone present in leaves and inflorescences of wild *Artemisia annua L.* This substances is an antimalarial agent with a totally different chemical structure and higher efficacy. *Artemisia annua L.* is original plant of subtropical area, but it can introduced into tropical area like Indonesia. The aim of this research is to isolated and characterized artemisinin from *Artemisia annua L.*, which cultivated in Lembang, Indonesia. Extraction were carried out with methanol as a solvent, partition by using hexane, and separated process by column chromatography with hexane/ethyl acetate as eluent. Isolate were characterized by TLC, FTIR, spectrophotometer UV, and spectroscopy HNMR. A number of 2,0 mg (0,016% w/w) S₄ obtained, as a result of isolation of hexane fraction, have a similar characteristic with artemisinin.

Keywords : Artemisinin, isolation, characterization, *Artemisia annua L.*, malaria.

xv + 51 hal : 21 picture, 5 table, 2 appendix

Bibliography : 32 (1985-2010)

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| HALAMAN SAMBUNG..... | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS | iii |
| LEMBAR PENGESAHAN | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH..... | vii |
| ABSTRAK | viii |
| DAFTAR ISI | x |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR TABEL | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2. Tujuan Penelitian..... | 3 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1. <i>Artemisia annua L.</i> | 4 |
| 2.2. Budidaya <i>Artemisia annua L.</i> | 7 |
| 2.3. Struktur, Sifat Fisik dan Kimia Artemisinin..... | 8 |
| 2.4. Lokasi, Distribusi, dan Kandungan Artemisinin | 10 |
| 2.5. Simplisia | 11 |
| 2.6. Ekstraksi dan Ekstrak | 11 |
| 2.7. Kromatografi | 12 |
| 2.8. Spektroskopi Inframerah | 12 |
| 2.9. Spektrofotometri UV-Vis | 14 |
| 2.10. Spektroskopi Resonansi Magnet Inti (¹ H-Nmr) | 15 |
| BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN | 16 |
| 3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian..... | 16 |
| 3.2. Alat | 16 |
| 3.3. Bahan | 16 |
| 3.4. Cara Kerja..... | 17 |
| 3.4.1. Penyiapan Bahan | 17 |
| 3.4.2. Pengukuran Partikel Serbuk | 17 |
| 3.4.3. Ekstraksi | 17 |
| 3.4.4. Partisi Ekstrak..... | 17 |
| 3.4.5. Identifikasi Artemisinin..... | 17 |
| 3.4.6. Fraksinasi Ekstrak | 18 |
| 3.4.7. Karakterisasi Kristal | 18 |
| BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN | 21 |
| BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN | 27 |
| 5.1. Kesimpulan..... | 27 |
| 5.2. Saran..... | 27 |



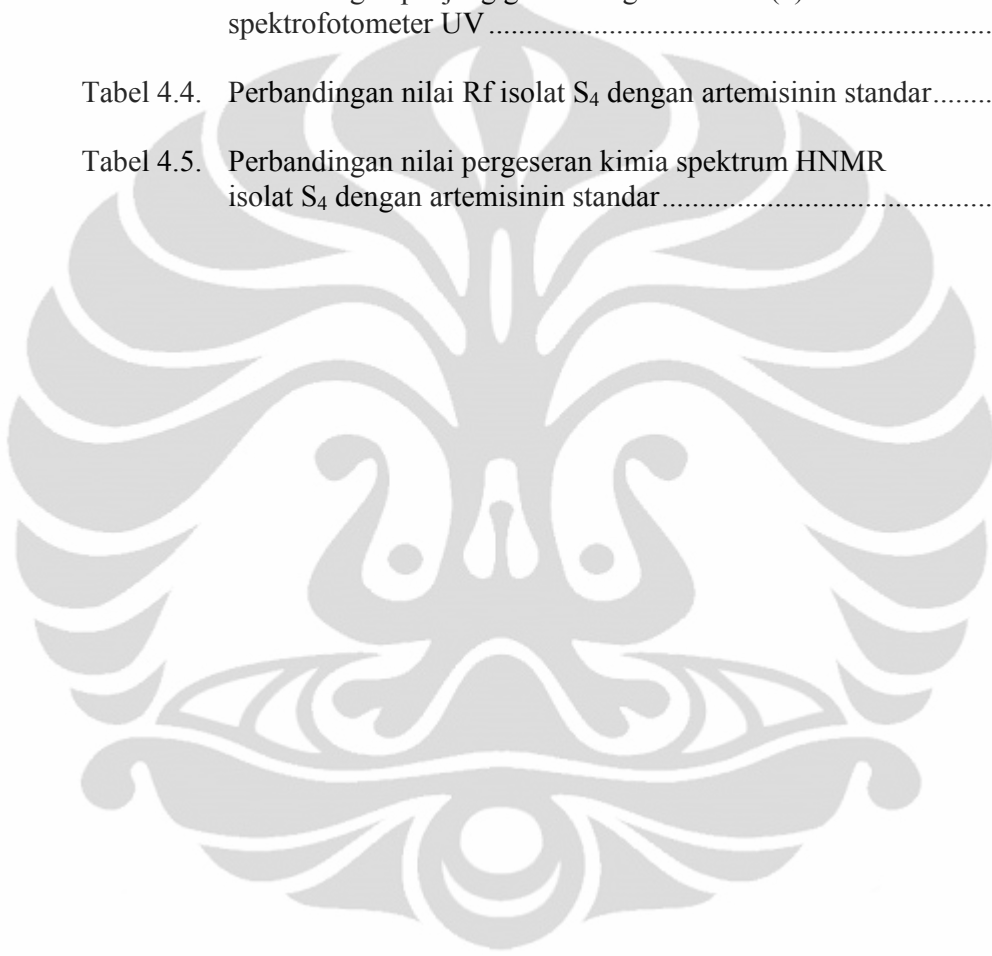
DAFTAR GAMBAR

| | | |
|-----------------|--|----|
| Gambar 2.1.1. | <i>Tanaman Artemisia annua L.</i> | 4 |
| Gambar 2.1.2. | Beberapa senyawa terpenoid dari <i>Artemisia annua L.</i> | 6 |
| Gambar 2.3.1. | Struktur dan stereokimia senyawa artemisinin | 9 |
| Gambar 3.2.2.1. | Spektrofotometer infra merah FTIR 8400 S (Shimadzu)..... | 32 |
| Gambar 3.2.2.2. | <i>TLC Scanner III</i> (Camag) | 32 |
| Gambar 3.2.2.3. | Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1601)..... | 33 |
| Gambar 3.2.2.4. | Alat penentu titik lebur (Stuart Scientific)..... | 33 |
| Gambar 4.1. | Alat kolom Kromatografi..... | 34 |
| Gambar 4.2. | Hasil KLT (a = ekstrak heksan; b = artemisinin standar; c = ekstrak metanol) dengan menggunakan fase gerak (I= heksan; II= etil asetat-heksan (5:95); III= etil asetat-heksan (10:90)) dan fase diam silika gel 60 F ₂₅₄ | 35 |
| Gambar 4.3. | Hasil KLT (a = ekstrak heksan; b = artemisinin standar; c = ekstrak metanol) dengan menggunakan fase gerak (I= etil asetat-heksan (15:85); II= etil asetat-heksan (20:80); III= etil asetat-heksan (25:75)) dan fase diam silika gel 60 F ₂₅₄ | 35 |
| Gambar 4.4. | Hasil KLT (a = ekstrak heksan; b = artemisinin standar; c = ekstrak metanol) dengan menggunakan fase gerak (I= etil asetat-heksan (2:98); II= etil asetat-heksan (3:97); III= etil asetat-heksan (4:96)) dan fase diam silika gel 60 F ₂₅₄ | 36 |
| Gambar 4.5. | Hasil kromatografi lapis tipis vial 303-310 dengan eluen 3% etil asetat/heksan dan fase diam silika gel 60 F ₂₅₄ | 36 |
| Gambar 4.6. | Hasil kromatografi lapis tipis vial 311-318 dengan eluen 3% etil asetat/heksan dan fase diam silika gel 60 F ₂₅₄ | 37 |
| Gambar 4.7. | Hasil kromatografi lapis tipis vial 319-325 dan vial 302 dengan eluen 3% etil asetat/heksan dan fase diam silika gel 60 F ₂₅₄ | 37 |
| Gambar 4.8. | Hasil optimasi kromatografi lapis tipis pemisahan S ₀ dengan fase gerak etil asetat-heksan (7:93) dan teknik | |

| | | |
|--------------|---|----|
| | penotolan cara pita. | 38 |
| Gambar 4.9. | Hasil kromatografi lapis tipis isolat S ₄ dan artemisinin standar dengan fase gerak (A) etil asetat-heksan (3:97) dan fase gerak (B) etil asetat-heksan (7:93)..... | 38 |
| Gambar 4.10. | Kromatogram LC-MS ekstrak heksan | 39 |
| Gambar 4.11. | Gambar Kristal isolate S ₄ | 39 |
| Gambar 4.12. | Perbandingan spektrum IR artemisinin standar (A) dan isolat S ₀ (B)..... | 40 |
| Gambar 4.13. | Spektrum IR <i>baseline</i> KBr..... | 41 |
| Gambar 4.14. | Perbandingan spektrum UV ekstrak heksan (A), isolat S ₀ (B), isolat S ₄ (C), dan artemisinin standar (D) pada λ 200-400nm dan pelarut metanol | 42 |
| Gambar 4.15. | Spektrum HNMR isolat S ₄ sebagai pelarut digunakan CDCl ₃ dan senyawa referensi tetrametilsilan (TMS)..... | 43 |
| Gambar 4.16. | Perbandingan spektrum HNMR isolat S ₄ (A) dengan artemisinin standar (B) sebagai pelarut digunakan CDCl ₃ | 44 |

DAFTAR TABEL

| | | |
|------------|---|----|
| Tabel 4.1. | Perbandingan spektrum Artemisinin standar dan S ₀ | 46 |
| Tabel 4.2. | Perbandingan nilai Rf artemisinin pada optimasi eluen | 46 |
| Tabel 4.3. | Perbandingan panjang gelombang maksimal (λ) spektrofotometer UV | 47 |
| Tabel 4.4. | Perbandingan nilai Rf isolat S ₄ dengan artemisinin standar | 47 |
| Tabel 4.5. | Perbandingan nilai pergeseran kimia spektrum HNMR isolat S ₄ dengan artemisinin standar | 48 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1. Persentase Rendeman | 50 |
| Lampiran 2. Pengukuran ukuran partikel serbuk | 51 |



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Malaria merupakan penyakit infeksi yang mengancam kehidupan, hingga saat ini masih merupakan masalah kesehatan yang serius dan kompleks bagi masyarakat dunia. Pada tahun 2008 terdapat 247 juta kasus malaria dan setidaknya 1 juta diantaranya meninggal dunia, kebanyakan adalah anak-anak yang tinggal di Afrika (WHO, 2010).

Di Indonesia, malaria masih belum dapat diatasi dan menjadi masalah kesehatan yang perlu mendapatkan perhatian dari pemerintah dan masyarakat. Sampai dengan tahun 2009, sekitar 80% kabupaten/kota masih termasuk kategori endemis malaria dan 45% penduduk bertempat tinggal di daerah yang beresiko tertular malaria (Depkes, 2009).

Di Indonesia telah ditemukan kasus *Plasmodium falciparum* yang resisten terhadap obat antimalaria konvensional seperti klorokuin, sulfadoksin-pirimetamin, kina, meflokuin, dan halofantrin (E. Tjitra, 1994). Oleh karena itu dibutuhkan agen antimalaria yang berbeda struktur kimianya dan memiliki efikasi yang lebih baik dari antimalaria sebelumnya.

Artemisinin merupakan obat antimalaria baru yang memiliki struktur kimia yang berbeda dan memiliki efikasi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan obat antimalaria konvensional lainnya yg telah terjadi resisten terhadap *Plasmodium falciparum*. Artemisinin diisolasi dari *Artemisia annua L.*, di Cina dikenal dengan nama *Qinghaosu* (Fulong Liao, 2009). Dari kajian pustaka, senyawa artemisinin dan turunannya menghambat pertumbuhan *P.falciparum* baik secara in vitro maupun in vivo (Casteel, 1997). WHO menganjurkan penggunaan kombinasi berbasis artemisinin (ACT) sebagai pengobatan terbaik yang tersedia saat ini (WHO, 2010). Sampai saat ini, artemisinin masih terbukti efektif dalam membunuh parasit malaria.

Artemisinin dapat diperoleh melalui sintesis kimia (Marcel Hommel, 2008), Teknik DNA rekombinan (Keasling et al, 2006), dan isolasi dari bahan alam. Sampai dengan saat ini cara isolasi dari bahan alam merupakan cara paling

ekonomis untuk mendapatkan artemisinin dibandingkan melalui sintesis kimia dan teknik DNA rekombinan.

Artemisia annua L. merupakan sumber utama penghasil artemisinin. (Klayman et al, 1984; Klayman et al, 1993; Ruben SR, 2009). Artemisinin berhasil diisolasi dari *A. apiaceae* yang tumbuh di Jepang dan *A. lanceae* namun tidak disebutkan tempat tumbuhnya (Klayman et al, 1993). Di Indonesia berhasil diisolasi artemisinin dari *Artemisia sacrorum Ledeb* yang dibudidayakan di Sukabumi, Jawa Barat. Kadar artemisinin dalam simplisia tersebut sekitar 0,064% (Purwatiningsih, 2003).

Artemisia annua L. merupakan tanaman yang berasal dari daerah subtropis, namun dapat dikembangkan di daerah tropis melalui pemuliaan (seleksi adaptasi dan hibridisasi). Di Indonesia kebutuhan akan artemisinin sangat besar dan seluruhnya masih diimpor, oleh karena itu pengembangan budidaya *Artemisia annua L.* di Indonesia merupakan peluang yang cukup besar (Gusmaini dan Hera Nurhayati, 2007). Sejalan dengan berkembangnya budidaya *Artemisia annua L.* di Indonesia, maka perlu diketahui banyaknya artemisinin yang dapat diisolasi dari *Artemisia annua L.* hasil budidaya di daerah Lembang, Jawa Barat oleh salah satu perusahaan farmasi.

Metode yang praktis dan ekonomis untuk ekstraksi dalam skala besar, yaitu menggunakan pelarut heksan kemudian dipartisi dengan asetonitril, rendemen yang diperoleh adalah 0,12% (ElSohly et al, 1990). Kelarutan artemisinin didalam asetonitril sangat besar, yaitu 267,7 mg/mL, namun harga asetonitril sangat mahal (BIWIC, 2009). Dengan mempertimbangkan berbagai kendala, maka dilakukan modifikasi terhadap proses isolasi yang dilakukan oleh ElSohly et al, yaitu dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut metanol yang memiliki kepolaran hampir mirip dengan asetonitril, sehingga diharapkan seluruh komponen aktif dapat diperoleh, kemudian membaginya kedalam fraksi-fraksi berdasarkan kepolaran, sehingga untuk proses isolasi artemisinin akan lebih efektif dan efisien (Ruben SR, 2009; Burdick & Jackson, 2010).

1.2 Tujuan Penelitian

Mendapatkan rendemen isolat artemisinin dari tanaman *Artemisia annua* L. yang di budidayakan di Lembang, Jawa Barat oleh sebuah perusahaan farmasi dan karakterisasi kristal artemisinin yang diperoleh.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Artemisia annua L.*

Artemisia annua L. termasuk kedalam famili asteraceae dalam ilmu taksonomi tumbuhan kedudukannya adalah (Anonim, 2010):

| | |
|--------------|---|
| Kingdom | : Plantae (Tumbuhan) |
| Super Divisi | : Spermatophyta (Menghasilkan biji) |
| Divisi | : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga) |
| Kelas | : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil) |
| Sub Kelas | : Asteridae |
| Bangsa | : Asterales |
| Suku | : Asteraceae |
| Marga | : Artemisia |
| Spesies | : <i>Artemisia annua L.</i> |



Gambar 2.1.1. Tanaman *Artemisia annua L.*

Morfologi *Artemisia annua L.* tinggi 30-100 cm batang tegak, bulat persegi, berwarna hijau kecoklatan. Daun majemuk, bentuk oval, lonjong, panjang 10-18 cm, lebar 6-15 cm, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi beringgir, anak daun bentuk oval, tepi bergerigi, pertulangan daun tegas, warna ungu kehijauan, hijau. Bunga majemuk, bentuk tandan, terletak di ujung batang, panjang mencapai 30 cm, kelopak hijau, bentuk bintang, berlekuk 5, mahkota halus mengelilingi cawan bunga tempat benang sari dan putik, diameter 2-3 mm, warna putih gading. Biji

bentuk lanset, kecil, berwarna coklat. Akar serabut, berwarna putih kekuningan (Anonim, 2010).

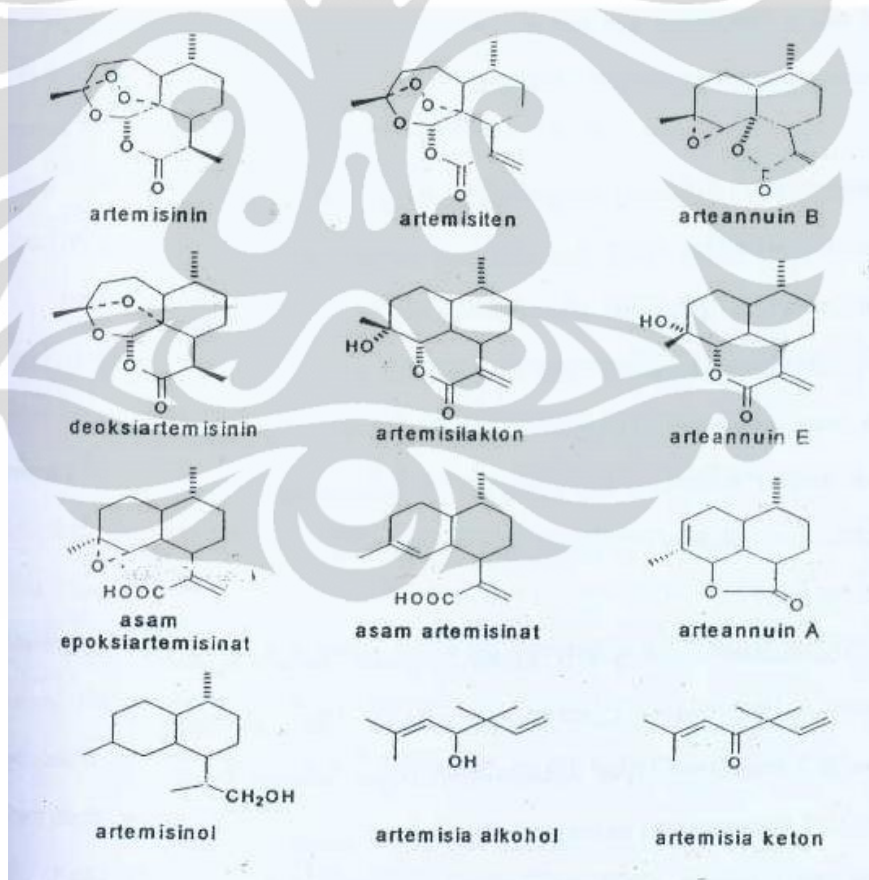
Artemisia annua L. sudah sangat lama dikenal dan digunakan dalam pengobatan tradisional Cina. Pertama kali disebut dalam resep-resep untuk 52 jenis penyakit yang ditemukan dalam makam Dinasti Mawanghui Han pada tahun 168 SM. Dalam resep tersebut, tanaman ini digunakan sebagai obat wasir. Dalam buku Zau Hou Bei fi Feng yang ditulis oleh Ge Hong pada 340 SM, tanaman ini digunakan sebagai obat penurun panas (demam). Cara pemakaiannya sangat sederhana yaitu dengan cara mencelupkan segenggam herba tanaman ini dalam satu sheng (\pm 1 liter) air dan air perasannya diminum sekaligus. Pada tahun 1596, seorang herbalis terkenal bernama Li Shizen menyatakan bahwa rasa gerah dan demam yang disebabkan oleh malaria dapat dihilangkan dengan meminum ramuan herba tanaman ini. Akhirnya sampai sekarang, tanaman ini dikenal sebagai obat antimalaria. Disamping kegunaannya sebagai obat, tanaman ini juga banyak digunakan sebagai bumbu (*tarragon*) pada berbagai masakan tradisional, flavour cuka (*vinegar*) dan minuman keras (*illegal drink*), zat penolak serangga, dan minyak atsirinya untuk pewangi (Klayman, 1985 dan 1993).

Artemisia annua L. mengandung senyawa golongan terpenoid, baik yang tergolong dalam kelompok seskuiterpenoid maupun kelompok terpenoid yang lain. Senyawa seskuiterpenoid yang berhasil diidentifikasi adalah artemisinin (qinghaosu, arteannuin), arteannuin A (qinghaosu I), arteannuin B (qinghaosu II), arteannuin C, arteannuin E (qinghaosu V), dan arteannuin F (artemisilakton), asam artemisinat (asam artemisat, asam arteanuat, asam qinghao), deoksiartemisinin (qinghaosu III), qinghaosu IV, artemisinol, estermetilartemisinat, artemisitene dan asam epoksiartemisinat (Tang & Eisenbrand, 1992) dapat dilihat pada gambar 2.1.2.

Senyawa terpenoid lain yang berhasil diidentifikasi sebagai komponen minyak atsiri ialah *artemisia ketone*, *isoartemisia ketone*, *1-camphor*, *caryophyllen*, α -*pinen*, *cineole*, *cadinene*, *thujone*, *isothujone*, *borneol*, *linalyl actate*, *neothujol*, β -*phellandrene*, *terpinolene*, *bornyl acetate*, β -*pinene*, *p-cymol*, β -*myrcene*, *benzylisovalerat*, β -*famesene*, *artemisia alkohol* (Tang & Eisenbrand 1992), *camphen*, *sabinene*, *p-cymene*, *1,8-cineole*, α -*terpinene*, *linalool*, *terpinen-*

4-ol, *α -terpineol*, *α -copaene*, *humulen*, *trans- β -famesene* dan *germacren-D* (Woerdenbarg et al, 1994).

Senyawa yang berhasil diidentifikasi diluar golongan terpenoid adalah kelompok flavonoid dan senyawa analog kumarin, yaitu kumarin, skopoletin, esculetin, 3,5-dihidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavon, 5,4'-dihidroksi-3,6,7,3'-tetrametoksi flavon dan artemetin (Tang & Eisenbrand. 1992), sedangkan senyawa alifatik yang berhasil diidentifikasi adalah *n-nonakosan*, *n-pentakosan*, dan lain-lain (QACRG, 1982). Dari sekian banyak komponen yang terkandung dalam tanaman *Artemisia annua L.* yang terbukti efektif dalam menekan pertumbuhan *Plasmodium* adalah artemisinin.



Gambar 2.1.2. Beberapa senyawa terpenoid dari *Artemisia annua L.*

2.2 Budidaya *Artemisia annua L.*

Artemisia dapat tumbuh dengan baik pada daerah dataran tinggi dengan ketinggian 1000-1500 m di atas permukaan laut (dpl), tanah berpasir atau berlempung yang berdrainase baik dengan pH 5,5-8,5 (pH optimum 6-8), curah hujan 700-1000 mm³/tahun. Ketersediaan air adalah faktor yang sangat mempengaruhi pertumbuhan tanaman terutama pada umur 1-2 bulan.

Tanaman *Artemisia* berasal dari daerah subtropis. Untuk dikembangkan di daerah tropis, perlu diperhatikan beberapa hal antara lain adaptasi lingkungan dan adaptasi genetik.

Artemisia termasuk tanaman hari pendek apabila ditanam pada daerah dengan lama penyinaran <13 jam/hari, akan cepat membentuk bunga. Sebaliknya pada daerah dengan lama penyinaran >13 jam/hari akan lambat berbunga. Dengan demikian pada kondisi di daerah penyinaran >13 jam/hari tanaman *Artemisia* akan tumbuh optimal, menghasilkan produksi herba dan artemisinin yang tinggi. Daerah yang dimaksud adalah daerah iklim sedang yang terletak pada kisaran 30-40°LU/LS.

Penanaman *Artemisia* di daerah berlintang rendah berpengaruh terhadap pertumbuhan antara lain sifat tanaman menjadi lebih bervariasi. Permasalahan yang dihadapi didalam mengintroduksi tanaman subtropis ke tropis, adalah rendahnya produksi dan kadar artemisinin, sebagai akibat dari perubahan lingkungan antara lain tingginya suhu, intensitas cahaya, serta penyinaran matahari yang pendek (<13 jam/hari) sehingga tanaman cepat berbunga.

Budidaya tanaman *Artemisia* di daerah tropis dapat dilakukan dengan memilih klon-klon yang cocok dengan iklim tropis untuk memperkecil permasalahan yang ada. Klon yang cocok dibudidayakan di daerah tropis adalah klon yang pembungaannya lebih lambat karena di daerah tropis waktu penyinarannya lebih pendek daripada di daerah subtropis.

Respon tanaman terhadap agroklimat dapat meningkatkan atau menurunkan produktivitas metabolit sekunder tanaman. Agroklimat yang memenuhi persyaratan tumbuh optimal tanaman akan meningkatkan produktivitas metabolit sekunder tanaman, dan sebaliknya. Ketinggian tempat dan iklim sangat

mempengaruhi kandungan bahan aktif. Budidaya pada daerah lintang $<30^\circ$ dan dataran rendah menghasilkan produksi dan kadar artemisinin yang rendah.

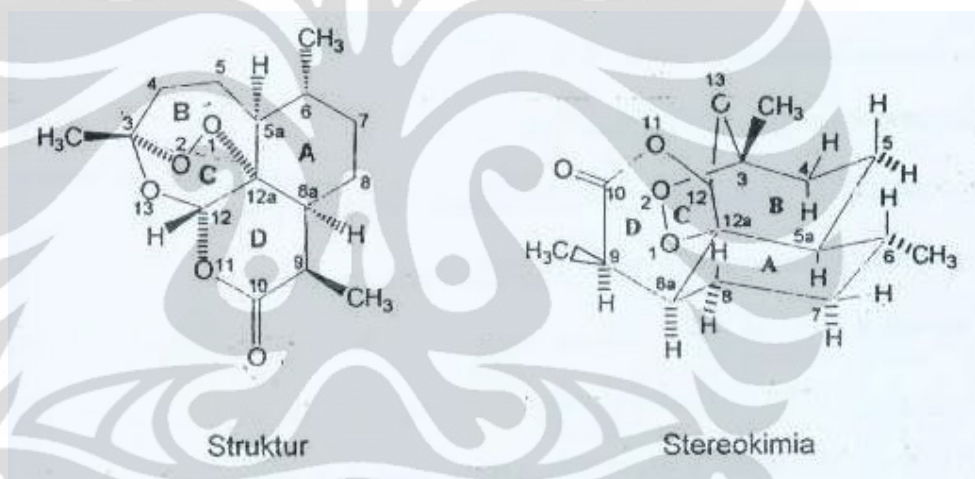
Penanaman *Artemisia* sebaiknya dilakukan pada awal musim hujan. *Artemisia annua* L. sangat rentan terhadap kekeringan terutama pada 2-3 bulan pertama setelah penanaman. Berdasarkan hal tersebut waktu penanaman yang tepat dan ketersediaan air di lokasi penanaman perlu diperhatikan untuk menghasilkan herba dan kadar artemisinin yang optimal (Gusmaini dan Hera Nurhayati, 2007).

Pemupukan berperan penting pada produksi biomas tanaman. Biomas tanaman berkorelasi langsung pada produksi total artemisinin. Kebutuhan pemupukan bervariasi menurut daerahnya dan tergantung jenis tanah dan status ketersediaan haranya di dalam tanah. Pemberian pupuk mengandung nitrogen harus memperhatikan konsentrasi optimal nitrogen yang diberikan. Pemberian pupuk mengandung nitrogen dengan konsentrasi lebih besar dibandingkan konsentrasi optimal nitrogen, akan menurunkan kadar artemisinin di dalam tanaman (Davies et al, 2009). Artemisinin disintesis dari *farnesyl pyrophosphate* (FPP) melalui aktivitas dari *prenyltransferase farnesyl diphosphate*. Pembentukan metabolik primer dipengaruhi oleh input yang diberikan termasuk unsur hara, karena penyusun FPP pada metabolik primer dipengaruhi oleh unsur fosfat. Untuk meningkatkan kadar artemisinin dapat dilakukan pemberian pupuk P (Gusmaini dan Hera Nurhayati, 2007).

2.3 Struktur, Sifat Fisik dan Kimia Artemisinin

Struktur artemisinin termasuk kelompok seskuiterpen lakton (δ -valerolakton) dan dari data analisis spektrofotometri massa resolusi tinggi, disimpulkan senyawa tersebut mempunyai BM 282,34 dengan distribusi 63,81% C; 7,85% H dan 28,33% O dengan rumus empiris $C_{12}H_{22}O_5$. Nama IUPAC artemisinin adalah [3R-(3 α , 5 $\alpha\beta$, 6 β , 8 $\alpha\beta$, 9 α , 12 β , 12aR*)]-oktahidro-3,6,9-trimetil-3,12-epoksi-12H-pirano-[4,3-j]-1,2-bensodioxepin-10-(3H)-on, sedangkan sinonim dari artemisinin adalah arteannuin, huang hua haosu, qinghaosu, QHS dan qing hau sau (The Merck Index, 1989).

Data kristalografi sinar X menunjukkan bahwa 15 atom karbon dan 5 atom oksigen sebagai unsur penyusun struktur artemisinin yang tersusun dalam 4 cincin: A, B, C, dan D. cincin A merupakan sikloheksana dengan konformasi kursi, cincin D merupakan δ -lakton yang berperan dalam pelekukan konformasi kursi, sedangkan cincin B dan C merupakan cincin yang jenuh dengan atom oksigen dan keduanya terpisah oleh jembatan peroksida. Keempat cincin dalam struktur artemisinin mempunyai hubungan ikatan yang erat satu sama lainnya. Hubungan ikatan antara cincin A-D, A-B dan C-D adalah cis sedangkan B-D adalah trans (CCRG, 1982). Struktur dan stereokimia senyawa artemisinin ditampilkan pada gambar 2.2.1.



Gambar 2.3.1. Struktur dan stereokimia senyawa artemisinin

Sifat fisik senyawa artemisinin adalah merupakan suatu kristal ortorombik tak berwarna dan berbentuk jarum, titik lebur $156-157^{\circ}\text{C}$ (QACRG, 1979), $153-154^{\circ}\text{C}$ (Klayman et al, 1984), $150-152^{\circ}\text{C}$ (Acton et al, 1986), 154°C (ElSohly et al, 1990), $[\alpha]_D^{17} = 66,3^{\circ}$ dan kerapatannya $1,30 \text{ g/cm}^3$. Sifat kimia Artemisinin sangat larut dalam pelarut semipolar, seperti diklorometan ($1086,9 \text{ mg/mL}$), kloroform ($1061,8 \text{ mg/mL}$), asetonitril ($267,7 \text{ mg/mL}$), aseton ($242,2 \text{ mg/mL}$), dan etil asetat ($135,2 \text{ mg/mL}$) dan dapat terurai dalam pelarut yang mengandung proton dengan terbukanya cincin laktone. Stabilitas termal struktur artemisinin

sampai dengan suhu 150°C dan akan terdekomposisi bila dipanaskan sampai dengan suhu 180-200°C (H. Qu et al, 2009; Geldre et al, 1997).

2.4 Lokasi, Distribusi, dan Kandungan Artemisinin

Lokasi yang tepat terdapatnya artemisinin dalam tanaman *Artemisia annua* L. belum dapat dipastikan, namun terdapat bukti kuat bahwa senyawa ini dalam tanaman berada pada *glanduler trichomes*, dalam keadaan bebas dan kandungannya naik sejalan dengan tercapainya kematangan secara fisiologis. Oleh karena *glanduler trichomes Artemisia annua* L. terdapat pada semua bagian tanaman, maka artemisinin tersebar diseluruh tanaman dengan kadar berbeda, kecuali akar dan serbuk sari. 89% dari total artemisinin terakumulasi dibagian daun (Geldre et al, 1997).

Kandungan artemisinin tertinggi ditemukan pada tanaman *A.annua* berumur 5 bulan, yaitu 0,68% b/b berdasarkan berat kering daun (Woerdenbarg et al, 1994). Sedangkan beberapa peneliti lain menyatakan bahwa kandungan artemisinin paling tinggi dicapai pada saat tanaman akan berbunga sampai berbunga sempurna, yaitu 4-11 kali lebih tinggi kandungan artemisininnya (Geldre et al, 1997). Produksi artemisinin dalam tanaman *A.annua* dipengaruhi oleh iklim dan keadaan lingkungan seperti cahaya, suhu, air, dan kadar garam dalam tanah (Geldre et al, 1997).

Pada tahun 1972, peneliti Cina yang tergabung dalam *Qinghao Antimalarial Coordinating Research Group* (QACRG) mengisolasi senyawa aktif artemisinin dengan pelarut dietileter yang bersuhu rendah, dan baru pada tahun 1979 berhasil menetapkan strukturnya, meskipun sebenarnya khasiat tanaman ini sebagai obat tradisional Cina sudah dikenal hampir 2000 tahun yang lalu. Kandungan artemisinin dalam tanaman kadarnya bervariasi sesuai habitat tanaman tersebut. Kandungan artemisinin dalam tanaman *A.annua* yang ditanam didaerah Shin Yan, RRC mencapai 0,947% b/b. *A.annua* yang tumbuh di Washington D.C. \pm 0,06% b/b (Klayman et al, 1984), di propinsi Sichuan Cina \pm 0,01-0,5% b/b (Klayman, 1985), di Silver Spring MD AS 0,07% b/b (Acton et al, 1986), di Medicine Plant Garden, Univ. Mississippi, AS 0,12% b/b (El Sohly et al, 1990), dan di Vietnam 0,86% b/b (persentase semua diukur berdasarkan berat kering daun)

(Woerdenberg et al, 1994). Selain *A.annua*, artemisinin juga ditemukan pada tanaman *A.apiaceae* (Jepang) dengan kandungan $\pm 0,08\%$ b/b (Klayman, 1993).

2.5 Simplisia

Simplisia dalam Materia Medika Indonesia diartikan sebagai bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia berdasarkan sumbernya dapat dibedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (isi sel) yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan adalah simplisia yang berupa bahan pelikan yang belum diolah dengan cara sederhana atau belum berupa zat kimia murni (Anonim, 1995).

2.6 Ekstraksi dan Ekstrak

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Terdapat beberapa metode ekstraksi antara lain cara dingin yaitu maserasi dan perkolasi serta cara panas yaitu refluks, sokletasi, digesti, infuse, dekok.

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Anonim, 1995).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang diperoleh diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 1995).

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang baik (optimal) untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau yang aktif, dengan

demikian senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya, serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar senyawa kandungan yang diinginkan (Anonim, 2000).

2.7 Kromatografi

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion. Dengan demikian masing-masing zat dapat diidentifikasi atau ditetapkan dengan metode analitik (Anonim, 2000).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan atas penyerapan, partisi (pembagian) atau gabungannya. Kromatografi lapis tipis biasanya digunakan untuk pengecekan yang cepat terhadap komposisi campuran, menentukan kondisi percobaan dari kromatografi kolom, mengetahui kesempurnaan suatu reaksi, dan untuk identifikasi obat, ekstrak tanaman, preparat biokimia, serta mendeteksi kontaminan dan pemalsuan (Harmita, 2006)

Kromatografi kolom merupakan metode kromatografi cair yang baik digunakan untuk pemisahan campuran dalam skala besar (lebih dari 1 gram). Pada kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan diletakkan berupa pita pada bagian atas kolom penjerap yang berada dalam tabung kaca, tabung logam, atau tabung plastik. Kromatografi kolom terbagi dua jenis yaitu kromatografi kolom lambat dan kromatografi kolom dipercepat (kilat). Pada kromatografi kolom dipercepat, pelarut pengembang didorong dengan cepat (dengan tekanan gas) melalui kolom bergaris tengah besar tetapi pendek yang berisi penjerap basah yang ukuran partikelnya dikendalikan dengan ketat (Gritter Roy J et al, 1985).

2.8 Spektroskopi Inframerah

Dua molekul senyawa yang berbeda struktur kimianya akan berbeda pada spektrum infra merahnya. Hal ini dapat dimengerti, karena macam ikatan yang

berbeda, frekuensi vibrasinya tidak sama, serta walaupun macam ikatan sama, tetapi mereka berada dalam dua senyawa yang berbeda, frekuensi vibrasinya juga berbeda (karena kedua ikatan yang sama tersebut berada dalam lingkungan yang berbeda) (Harmita, 2006).

Daerah inframerah (IR) dibagi menjadi 3 sub daerah, yaitu sub daerah IR dekat ($\lambda = 780 \text{ nm} - 2,5 \text{ }\mu\text{m}$ atau $\nu = 14290 - 4000 \text{ cm}^{-1}$), sub daerah IR sedang ($\lambda = 2,5 \text{ }\mu\text{m} - 15 \text{ }\mu\text{m}$ atau $\nu = 4000 - 666 \text{ cm}^{-1}$), dan sub daerah IR jauh ($\lambda = 15 \text{ }\mu\text{m} - 50 \text{ }\mu\text{m}$ atau $\nu = 666 - 200 \text{ cm}^{-1}$). Dari ketiga sub daerah tersebut, hanya sub daerah IR sedang yang lazim digunakan untuk elusidasi struktur senyawa organik.

Analisis dalam spektrometri infra merah berdasarkan frekuensi vibrasi dari suatu senyawa, dimana masing-masing senyawa memiliki frekuensi vibrasi yang berbeda-beda sehingga dapat dikatakan bahwa spektrum infra merah merupakan sidik jari suatu senyawa (Skoog & Leary, 1992).

Biasanya dalam spektrum infra merah terdapat banyak puncak, artinya puncak yang ada jauh lebih banyak daripada puncak yang diharapkan dari vibrasi pokok, sehingga perlu diperhatikan letaknya (frekuensinya), bentuk (melebar atau tajam), dan intensitas (kuat atau lemah). Dengan demikian dapat dibedakan bentuk spektrum serapan dari zat yang satu dengan yang lainnya (Harmita, 2006).

Fourier transform infrared (FTIR) sudah sering digunakan untuk mengkarakterisasi interaksi obat-polimer di dalam dispersi padat. Interaksi dari radiasi elektromagnetik dengan resonansi vibrasi atau rotasi dalam suatu struktur molekul merupakan mekanisme kerja alat ini. Struktur penggunaan secara kualitatif ini adalah penerapan yang utama dari spektroskopi inframerah di bidang farmasi (Drooge, 2006; Harmita, 2006).

Spektrum infra merah bersifat khas untuk suatu senyawa kimia tertentu, dengan pengecualian isomer optik yang mempunyai spektrum identik. Seringkali perbedaan kecil dalam struktur menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam spektrum.

Faktor-faktor yang mempengaruhi vibrasi antara lain (Harmita, 2006) :

a. Coupling vibrasional

Pada gugus yang mengalami coupling, maka gugus tersebut akan mempunyai dua pita vibrasi ulur yang memiliki frekuensi vibrasi yang berbeda.

b. Ikatan hidrogen

Adanya ikatan hidrogen pada suatu gugus akan memperpanjang ikatan gugus tersebut. Akibatnya kekuatan ikatan tersebut berkurang sehingga pita vibrasinya muncul pada frekuensi yang lebih rendah.

c. Efek induksi

Unsur yang bersifat elektronegatif cenderung untuk menarik elektron kedalam antara atom karbon dan oksigen dalam ikatan C=O sehingga ikatan tersebut menjadi lebih kuat. Akibatnya pita vibrasinya muncul pada frekuensi yang lebih tinggi.

d. Efek resonansi (mesomer)

Adanya ikatan C=O yang bertetangga dengan gugus karbonil menyebabkan terjadinya delokalisasi elektron pada ikatan C=O dan ikatan rangkap. Akibatnya ikatan C=O akan lebih bersifat sebagai ikatan tunggal, kekuatan ikatannya melemah sehingga pita vibrasinya akan muncul pada frekuensi yang lebih rendah.

e. Sudut ikatan

Penurunan ukuran cincin akan menaikkan frekuensi vibrasi.

f. Efek medan

Dua gugus yang bersifat elektrostatik akan saling mempengaruhi frekuensi vibrasi masing-masing gugus karena terjadi interaksi ruang.

2.9 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Spektrofotometer UV-Vis digunakan terutama untuk analisa kuantitatif, tetapi dapat juga untuk analisa kualitatif. Untuk analisa kualitatif yang diperhatikan adalah membandingkan λ maksimum, serapan, daya serap dan spektrum serapannya (Harmita, 2006).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dalam molekul. Spektra ultraviolet dan terlihat dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Transisi-transisi tersebut biasanya antara orbital

ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan (Hardjono, 1991).

Panjang gelombang serapan adalah merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan tenaga dari orbital-orbital yang bersangkutan. Pemisahan tenaga yang paling tinggi diperoleh bila elektron-elektron dalam ikatan tunggal σ tereksitasi yang menimbulkan serapan dalam daerah dari 120 hingga 200 nm. Diatas 200 nm eksitasi elektron dari orbital-orbital p dan d dan orbital π terutama sistem terkonjugasi π segera dapat diukur dan spektra yang diperoleh memberikan banyak keterangan (Hardjono, 1991).

Pemilihan pelarut yang digunakan dalam spektrofotometer UV sangat penting, pelarut tidak boleh mengabsorpsi cahaya pada daerah panjang gelombang dimana dilakukan pengukuran sampel. Umumnya pelarut yang tidak mengandung sistem terkonjugasi sesuai untuk digunakan dalam spektrofotometer UV-Vis. Pelarut yang umum digunakan adalah air, etanol, metanol, dan n-heksan, karena pelarut ini transparan pada daerah UV (Harmita, 2006).

2.10 Spektroskopi Resonansi Magnet Inti ($^1\text{H-Nmr}$)

Spektroskopi resonansi magnet proton dapat menentukan banyaknya jenis lingkungan atom yang berbeda yang ada dalam molekul, berapa atom hidrogen pada masing-masing jenis lingkungan hidrogen, serta berapa banyaknya atom hidrogen yang ada pada atom karbon tetangga (Harmita, 2006).

Munculnya berbagai sinyal resonansi disebabkan karena proton dalam molekul senyawa berada dalam lingkungan kimia yang berlainan. Sinyal-sinyal resonansi tersebut letaknya dipisahkan oleh pergeseran kimia (*chemical shift*). Tidak semua sinyal sederhana (berupa garis tunggal atau *singlet*), beberapa sinyal mengikuti pola *splitting* yang karakteristik seperti *doublet*, *triplet*, *kuartet* dan sebagainya. Terjadinya *splitting* disebabkan oleh *spin-spin coupling*, yaitu interaksi dari suatu inti dengan inti yang lainnya (Harmita, 2006).

Dengan pergeseran kimia dapat diketahui macam lingkungan kimia dari proton. Dengan integrasi dapat diketahui jumlah relatif dari proton yang ada. Sedang dari *spin-spin coupling* dapat diketahui hubungan posisi antara inti-inti yang saling berintegrasi, karena besarnya interaksi yang disebut *coupling constant*

(J) tergantung kepada jumlah serta jenis ikatan yang memisahkan inti-inti tersebut. Fenomena ^1H NMR terjadi apabila inti yang searah dengan medan magnet eksternal dibuat mengabsorpsi energi (berupa radiasi elektromagnetik) sehingga berubah orientasi spinnya (Harmita, 2006).

Jika frekuensi resonansi semua proton dalam molekul sama, maka NMR akan menjadi sangat kecil kegunaannya untuk kimiawi organik. Namun kenyataannya, bahwa tipe proton yang berbeda mempunyai pergeseran kimia. Hingga harga bilangan dari pergeseran kimia untuk proton memberikan petunjuk untuk tipe proton. Harga pergeseran kimia ini dapat dipakai sebagai diagnose (Hardjono, 1991).

Ada empat langkah untuk menginterpretasi spektrum NMR. Langkah-langkah tersebut meliputi (Hardjono, 1991) :

- a. Jumlah sinyal, menerangkan ada berapa macam perbedaan dari proton-proton yang terdapat dalam molekul.
- b. Kedudukan sinyal, menerangkan sesuatu tentang lingkungan elektronik dari setiap macam proton atau tipe proton tersebut seperti aromatik, alifatik, primer, sekunder, tersier, benzyl, vinil, asetilen, berdekatan dengan halogen atau atom-atom atau gugus-gugus lain.
- c. Intensitas sinyal, menerangkan berapa banyak proton dari setiap macam proton yang ada. Luasan dibawah sinyal NMR adalah berbanding langsung dengan jumlah proton yang menimbulkan sinyal.
- d. Pemecahan (*splitting*) dari sebuah sinyal menjadi beberapa puncak, yang menerangkan tentang lingkungan dari sebuah proton dengan yang lainnya, yaitu proton-proton yang berdekatan.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Fitokimia Departemen Farmasi Fakultas MIPA Universitas Indonesia Depok dan di LIPI Kimia Puspipstek Serpong. Waktu penelitian dilaksanakan dari bulan Agustus sampai bulan Desember 2010.

3.2 Alat

3.2.1 Alat Proses

Neraca analitik (Sartorius[®] CP324S, Amerika), ayakan ukuran mesh 16; 25; 35 (Retsch, Jerman), rotavapor (Buchi[®] R11, Switzerland), *recirculating chiller* (Buchi[®] B-740, Switzerland), corong Buchner (Haldenwangler, Jerman), bejana KLT (CAMAG, Amerika), *UV-Cabinet* (CAMAG, Amerika), dan alat-alat gelas.

3.2.2 Alat Analisa

Lempeng silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, Jerman), alat penentu titik lebur (Bibby-Stuart Scientific, Inggris), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV 1601, Jepang), TLC Scanner III (CAMAG, Amerika), spektrofotometer infra merah (Shimadzu FTIR 8400s, Jepang), HPLC-MS (Mariner, Amerika), pompa (Hitachi LC 6200, Jepang), Spektroskopi NMR (JNM ECA-500, Jepang).

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan Uji

Serbuk herba *Artemisia annua L.* yang diperoleh dari sebuah perusahaan farmasi di Indonesia. Tanaman ini dibudidayakan di Lembang (1300-2000 meter dpl), Jawa Barat.

3.3.2 Bahan Kimia

Artemisinin standar (Sigma-Aldrich, Jerman), CDCl₃ (Jepang), Tetrametilsilan (Jepang), Metanol HPLC *grade* (JT Baker, Amerika), KBr, n-

heksan teknis, metanol teknis, kloroform teknis, etil asetat teknis, air suling, aseton P.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Penyiapan Bahan

Dalam penelitian ini digunakan serbuk herba *Artemisia annua L.* yang sudah dikeringkan.

3.4.2 Pengukuran Partikel Serbuk

Serbuk herba *Artemisia annua L.* ditimbang sebanyak 79 gram dimasukkan kedalam ayakan yang disusun bertingkat. Ayakan dengan ukuran mesh 16 disusun paling atas, dibawahnya disusun berturut-turut ayakan mesh 25, ayakan mesh 35, dan wadah penampung. Proses pengayakan dilakukan selama 15 menit dengan kecepatan 30 rpm.

3.4.3 Ekstraksi

Serbuk herba *Artemisia annua L.* ditimbang sebanyak 100 g dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer 500 mL yang dilengkapi dengan stirer magnet, kemudian di maserasi dalam suhu ruangan dengan kecepatan 700 rpm selama 1 jam menggunakan metanol sebanyak 300 mL, maserasi dilakukan berkali-kali sampai lapisan metanol tidak berwarna. Kemudian diuapkan dengan menggunakan rotavapor vakum pada suhu 40°C hingga volum ekstrak menjadi 100 mL.

3.4.4 Partisi Ekstrak

Larutan ekstrak yang diperoleh dipartisi menggunakan heksan 50 mL. Partisi dilakukan berkali-kali hingga lapisan heksan tidak berwarna, diperoleh ekstrak heksan (fraksi non polar) dan ekstrak metanol. Ekstrak metanol ditambahkan air suling 10 mL kemudian di partisi kembali menggunakan etil asetat 50 mL hingga lapisan etil asetat tidak berwarna, diperoleh ekstrak etil asetat (fraksi semipolar) dan ekstrak metanol-air (fraksi polar), masing-masing ekstrak dipekatkan dengan menggunakan rotavapor pada suhu 40°C.

3.4.5 Identifikasi Artemisinin

Tiap fraksi (polar, semipolar, dan non polar) diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (sebagai pembanding digunakan standar artemisinin, fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak campuran heksan dan etil asetat yang telah dioptimasi perbandingan campurannya) dan instrumen HPLC-MS (sebagai pembanding digunakan standar artemisinin), analisa ini dilakukan oleh teknisi khusus yang terlatih dalam mengoperasikan alat HPLC-MS. Bagian ekstrak yang mengandung artemisinin terbanyak dilanjutkan ke tahap fraksinasi.

3.4.6 Fraksinasi Ekstrak

Ekstrak kental yang paling banyak mengandung artemisinin, difraksinasi dengan kromatografi kolom. Dalam kromatografi kolom digunakan silika gel 60 sebagai fase diam dan sebagai fase gerak digunakan campuran heksan dan etil asetat yang ditingkatkan kepolarannya (elusi gradien). Kemudian masing-masing fraksi dikumpulkan, dan diidentifikasi keberadaan artemisininnya secara kromatografi lapis tipis (dengan pembanding artemisinin standar, fase diam silika gel 60 F₂₅₄ dan fase gerak etil asetat:heksan (3:97). Fraksi-fraksi yang mengandung artemisinin dipisahkan. Fraksi-fraksi dengan profil bercak yang sama digabungkan untuk selanjutnya dipekatkan dan di rekromatografi (KLT preparatif) sampai diperoleh fraksi dengan bercak tunggal mengandung artemisinin.

3.4.7 Karakterisasi Kristal

3.4.7.1 Titik Lebur

Dilakukan penentuan titik lebur dengan menggunakan mikropipiler yang dimasukan ke dalam alat *melting point tester* dan pemanas dihidupkan 10⁰C sebelum titik lebur, kenaikan temperatur diatas 1⁰C/menit, temperatur pertama kali zat mulai melebur hingga melebur seluruhnya dicatat sebagai jarak lebur.

3.4.7.2 Spektrofotometer IR

Penentuan spektrum infra merah, yaitu kurang lebih 2 mg isolat yang dihasilkan digerus dan dicampur dengan 98 mg KBr yang telah dikeringkan

selama 24 jam pada temperature 105°C, dibuat *baseline* dengan menggunakan KBr kemudian sampel dianalisis pada bilangan gelombang 4000 cm⁻¹ sampai 400 cm⁻¹. Kemudian spektrum isolat dibandingkan dengan spektrum artemisinin standar.

3.4.7.3 Spektrofotometer UV

Dilarutkan 1 mg isolat dengan menggunakan pelarut metanol 10 mL. Larutan isolat di analisa pada λ 200-400 nm, kemudian spektrum isolat dibandingkan dengan spektrum artemisinin standar.

3.4.7.4 KLT Satu Arah dengan 2 Fase Gerak yang Berbeda

Dilarutkan 1 mg isolat dengan menggunakan pelarut etil asetat 5 mL. Larutan isolat ditotolkan dengan menggunakan pipa kapiler pada lempeng KLT silica gel 60 F₂₅₄. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat:heksan (3:97) dan etil asetat:heksan (7:93).

3.4.7.5 Spektroskopi HNMR

Analisis isolat menggunakan spektroskopi ¹HNMR menggunakan pelarut CDCl₃ dan senyawa referensi tetrametilsilan. Spektrum isolat dibandingkan dengan spektrum artemisinin standar. Analisa ini dilakukan oleh teknisi khusus yang terlatih dalam mengoperasikan alat spektroskopi HNMR.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian kali ini, simplisia yang digunakan dalam bentuk serbuk kering dari sebuah perusahaan farmasi di Indonesia. Serbuk yang digunakan memiliki ukuran partikel $<0,50 \mu\text{m}$, grafik pengukuran partikel serbuk dapat dilihat pada lampiran 2. Ukuran partikel serbuk yang digunakan sangat menentukan kemampuan ekstraksi pelarut kedalam sel-sel tanaman. Glandular trichoma, yaitu bagian sel dalam *Artemisia annua L.* yang merupakan tempat disimpannya artemisinin sebagai metabolit sekunder. Dengan semakin kecil ukuran partikel serbuk maka semakin besar luas permukaan serbuk untuk kontak dengan pelarut sehingga semakin mudah untuk pelarut mengekstraksi artemisinin keluar dari selnya. Ekstraksi dilakukan secara maserasi dibantu dengan pengadukan *magnetic stirrer*. Pelarut yang digunakan adalah metanol yang sudah didestilasi. Ekstraksi lebih baik dilakukan secara maserasi karena sifat artemisinin yang tidak stabil terhadap suhu tinggi dalam bentuk larutan. Diperkirakan 20% artemisinin akan rusak pada suhu yang tinggi didalam larutan (Klayman et al, 1984). Maserasi dilakukan berkali-kali dengan menambahkan pelarut baru kedalam serbuk simplisia. Tiap siklus membutuhkan waktu 1 Jam dan jumlah metanol sebanyak 300 mL. Artemisinin diekstrak dengan metanol sampai dengan larutan supernatant jernih, untuk 103 gram serbuk *Artemisia annua L.* kira-kira dibutuhkan 18 kali siklus ekstraksi atau sekitar 5400 mL metanol. Ekstrak cair yang didapatkan berwarna hitam kehijauan. Sebelum dipartisi, ekstrak cair harus diuapkan dulu hingga volume tertinggal kira-kira 100 mL dengan menggunakan rotavapor vakum pada suhu 40°C , sehingga menjadi ekstrak pekat. Hal ini bertujuan agar pada saat proses partisi, artemisinin akan pindah kepelarut baru dengan efektif secara difusi pasif.

Ekstrak metanol yang diperoleh masih merupakan ekstrak kasar dimana banyak sekali komponen-komponen lain yang terlarut didalamnya. Ekstrak dipisahkan kedalam fraksi-fraksi yang lebih sedikit komponen yang terlarut sehingga lebih mudah dalam proses pemisahannya secara kromatografi kolom. Ekstraksi cair-cair (partisi) dilakukan dengan menggunakan pelarut heksan

sebanyak 50 mL tiap siklusnya. Partisi dilakukan berkali-kali sampai dengan warna lapisan heksan jernih. Untuk 100 mL ekstrak metanol dibutuhkan 60 siklus partisi atau sekitar 3000 mL heksan. Kedua lapisan diuapkan dengan rotavapor vakum pada suhu 40°C. Ekstrak kental dari lapisan heksan dinamakan fraksi non polar dan ekstrak kental dari lapisan metanol dinamakan fraksi polar. Dari hasil analisa terhadap kedua Fraksi ini dengan menggunakan spektroskopi LC-MS, dapat dilihat pada gambar 4.10. Ekstrak non polar mengandung artemisinin sedangkan ekstrak polar relatif tidak mengandung artemisinin. Puncak pada M+1 (283), M+23 (305), 2M+1 (565), dan 2M+23 (586), menunjukkan keberadaan artemisinin di dalam ekstrak heksan. Teknik ionisasi menggunakan metode ionisasi kimia (*electronspray ionization*), metode ini digunakan karena kita sudah mengetahui BM dari artemisinin (282), dengan mudah kita dapat mengetahui keberadaan artemisinin di dalam ekstrak heksan yang mengandung komponen yang sangat kompleks tanpa harus memisahkan artemisinin dari matrik. Dari 103 gram serbuk Artemisia awal yang diekstrak didapatkan ekstrak kental fraksi non polar (heksan) sebanyak 6 gram (5,82% b/b).

Ekstrak heksan dimonitoring komponen penyusunnya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), untuk mendapatkan fase gerak yang cocok agar pada saat pemisahan di kromatografi kolom, artemisinin didapatkan terpisah dari komponen yang lainnya. Ekstrak fraksi non polar dan ekstrak fraksi polar di totolkan pada lempeng silika 60 F₂₅₄ dan digunakan artemisinin standar sebagai pembanding. Fase gerak yang digunakan berturut-turut adalah heksan 100%; etil asetat:heksan (5:95); etil asetat:heksan (10:90); etil asetat:heksan (15:85); etil asetat:heksan (20:80); dan etil asetat:heksan (25:75). Hasil pemisahan dengan KLT dapat dilihat pada gambar 4.2, 4.3, dan 4.4. Bercak artemisinin pada ekstrak fraksi non polar (ekstrak heksan) tidak terelusi (Rf 0) dengan menggunakan fase gerak heksan 100%, dan semakin banyak jumlah etil asetat yang digunakan pada fase gerak, semakin besar nilai Rf bercak artemisinin namun semakin dekat jarak bercak artemisinin dengan bercak yang lainnya. Pada ekstrak fraksi polar tidak menunjukkan adanya bercak artemisinin. Data optimasi fase gerak dengan menggunakan KLT dapat dilihat pada tabel 4.2. Dari konsentrasi fase gerak yang digunakan di atas, pemisahan terbaik didapatkan pada fase gerak dengan

komposisi etil asetat:heksan (5:95) dengan nilai R_f 0,44. Kemudian dilakukan kembali optimasi fase gerak pada konsentrasi di sekitar etil asetat:heksan (5:95), yaitu pada konsentrasi fase gerak etil asetat:heksan(2:98); etil asetat:heksan (3:97); dan etil asetat:heksan (4:96). Hasil pemisahan terbaik dimana bercak artemisinin terpisah dengan baik dari bercak yang lain pada konsentrasi etil asetat:heksan (3:97) dengan nilai R_f 0,22 (tabel 4.2.). Dari hasil diatas dapat diketahui bahwa ada sekitar 3 bercak senyawa yang lebih dulu terelusi dibandingkan artemisinin menandakan senyawa-senyawa tersebut memiliki kepolaran yang lebih rendah dibandingkan artemisinin. Dengan begitu dapat direncanakan untuk fase gerak yang akan digunakan secara gradien yaitu dimulai dari pelarut heksan kemudian ditingkatkan kepolarannya dengan etil asetat sedikit demi sedikit agar bercak artemisinin benar-benar terpisah dengan bercak yang lain. Kolom yang digunakan berdiameter 3,5cm dan panjang 50 cm. perbandingan ekstrak kental dan silika yang digunakan adalah 1:30. Ekstrak kental heksan (fraksi non polar) ditimbang sebanyak 5,0 gram, dibuat menjadi serbuk dengan cara menggerusnya sambil ditetesi sedikit aseton dan silika dengan jumlah yang sama seperti ekstrak kental sampai menjadi serbuk. Ekstrak yang digunakan harus dalam keadaan kering agar tidak mengganggu proses pemisahan didalam kromatografi kolom. Tipe kolom yang digunakan adalah kolom lambat, oleh karena itu proses pengemasan kolom dilakukan dengan cara basah yaitu dengan membuat *slurry* atau lumpur silika dalam pelarut heksan yang dimasukan sedikit demi sedikit ke dalam kolom yang sudah disumbat bagian bawahnya dengan kapas. Kolom lambat memberikan pemisahan yang lebih baik jika dibandingkan kolom cepat. Silika gel (150,0 gram) yang sudah dikemas kedalam kolom memiliki tinggi 33,5 cm, pemisahan dengan menggunakan kolom kromatografi dapat dilihat pada gambar 4.1. Hasil pemisahan ditampung dalam vial-vial berukuran 10 mL. Pada vial ke 302-325 terdapat kristal setelah fase geraknya diuapkan. Kemudian diuji dengan KLT didapatkan satu bercak yang sama dengan bercak artemisinin standar (nilai R_f 0,22), kecuali pada vial ke 302, 303, dan 304. Vial-vial yang mengandung bercak yang sama digabung dan ditimbang memiliki bobot 172,4 mg (0,17% b/b), selanjutnya dinamakan S_0 . Jarak lebur S_0 adalah 148° - 151° C. Jarak lebur S_0 berbeda dengan Jarak lebur pada penelitian-penelitian

yang lainnya yaitu 156-157°C (QACRG, 1979), 153-154°C (Klayman et al, 1984), 150-152°C (Acton et al, 1986), 154°C (ElSohly et al, 1990) hal ini kemungkinan karena S_0 masih mengandung pengotor.

Pada pemeriksaan spektrum IR S_0 , yaitu dilakukan dengan membandingkan pita-pita serapan yang muncul pada S_0 dengan artemisinin standar. Gambar spektrum IR dapat dilihat pada gambar 4.12 dan 4.13. Pada S_0 terdapat vibrasi ulur C=O pada frekuensi 1749 cm^{-1} yang diduga sebagai vibrasi ulur C=O siklik keton dan C=O siklik ester, karena terdapat vibrasi ulur C-O pada frekuensi 1000-1300 cm^{-1} , tepatnya pada 1233 cm^{-1} dan 1266 cm^{-1} , maka gugus C=O ini diduga suatu ester siklik (lakton). Pada artemisinin standar didapatkan spektrum yang hampir mirip dengan spektrum S_0 , yaitu terdapat vibrasi ulur C=O pada frekuensi 1733 cm^{-1} yang diduga sebagai vibrasi ulur C=O siklik keton dan C=O siklik ester, karena juga terdapat vibrasi ulur C-O pada frekuensi 1000-1300 cm^{-1} , tepatnya pada 1183 cm^{-1} dan 1200 cm^{-1} , maka gugus C=O ini diduga suatu ester siklik (lakton). Selain itu pada S_0 juga terdapat serapan lainnya yaitu vibrasi ulur pada C=C pada frekuensi 1617 cm^{-1} , vibrasi ulur ini didukung oleh vibrasi ulur =C-H alkena pada frekuensi 3033 cm^{-1} . Pada kedua spektrum berturut-turut S_0 dan standar artemisinin terdapat serapan pada frekuensi 3499 cm^{-1} dan 3467 cm^{-1} yang sangat lemah. Diduga merupakan suatu pengotor yang memiliki serapan lemah pada frekuensi 3200-3600 cm^{-1} . Spektrum IR S_0 secara garis besar masih mengandung pengotor-pengotor dapat dilihat pada daerah sidik jari, jika dibandingkan dengan standar artemisinin, dimana pada S_0 serapan artemisinin bertumpang tindih dengan serapan pengotor.

Pada pemeriksaan spektrum UV S_0 , dengan menggunakan pelarut metanol pada panjang gelombang 200-400 nm dapat dilihat pada gambar 4.14. Pada artemisinin standar memberikan satu puncak yang memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 232 nm. Sedangkan jika dibandingkan dengan S_0 , yaitu memiliki dua puncak yang memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 232 nm dan 276 nm. Selaras dengan analisa spektrum IR, kemungkinan masih ada pengotor pada S_0 yang mampu memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 276 nm. Kemudian S_0 dimurnikan dengan menggunakan lempeng preparatif silika gel 60 F₂₅₄ 20X20 cm. Sebelum

melakukan KLT preparatif, di optimasi terlebih dahulu fase gerak yang tepat dengan menggunakan lempeng silika gel 60 F₂₅₄ ukuran 2X7 cm, didapatkan fase gerak yang cocok dan memberikan pemisahan yang baik ialah etil asetat:heksan (7:93), hasil pemisahan dapat dilihat pada gambar 4.8. Setelah dielusi dengan etil asetat:heksan (7:93), S₀ terpisah dengan baik menjadi 3 bercak, artemisinin terelusi lebih dulu dengan nilai R_f 0,89. Bercak artemisinin kemudian di *scan* dengan menggunakan spektrofotometer densitometri, didapatkan dua puncak dengan nilai R_f yang berbeda, hal ini menandakan bercak artemisinin masih mengandung senyawa lain. Kemudian dilakukan pemisahan dengan KLT preparatif, diharapkan pada KLT preparatif, bercak artemisinin akan terpisah dengan bercak pengotornya, karena lempeng yang digunakan lebih panjang jarak tempuhnya (20X20cm) yang dapat mengakibatkan artemisinin akan terpisah dari pengotornya. Pada KLT preparatif didapatkan 4 bercak yang berbeda yaitu S₁, S₂, S₃ dan S₄. Bercak S₃ dan S₄ kemungkinan adalah artemisinin, kemudian dikerok dan dilarutkan dengan etil asetat. Setelah itu dilakukan analisa spektrum UV, didapatkan S₄ memiliki spektrum yang sama dengan artemisinin standar dan memberikan serapan maksimal yang sama pada panjang gelombang 232 nm (gambar 4.14). Jika dibandingkan dengan spektrum UV S₀, maka dapat disimpulkan bahwa S₄ lebih murni dibandingkan S₀. Setelah seluruh pelarutnya diuapkan, didapatkan S₄ sebanyak 2,0 mg (0,016 % b/b) dapat dilihat pada gambar 4.11.

Pada S₄ dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan kromatografi lapis tipis satu arah dengan menggunakan 2 fase gerak yang berbeda yaitu etil asetat:heksan (3:97) dan etil asetat:heksan (7:93) (gambar 4.9 dan tabel 4.4). Didapatkan nilai R_f S₄ dan R_f artemisinin standar yang relatif sama pada kedua jenis fase gerak yang digunakan. Pada fase gerak etil asetat:heksan (3:97) nilai R_f S₄ = 0,18 dan R_f artemisinin standar = 0,18. Sedangkan pada fase gerak etil asetat:heksan (7:93) nilai R_f S₄ = 0,91 dan R_f artemisinin standar = 0,92. Kedua fase gerak ini digunakan akan memberikan nilai R_f artemisinin yang berbeda jauh. S₄ memberikan nilai R_f relatif sama pada kedua fase gerak, hal ini menunjukkan S₄ memiliki merupakan zat tunggal yaitu artemisinin.

Untuk memastikan bahwa S_4 adalah artemisinin, dilakukan analisa dengan menggunakan spektroskopi HNMR. Spektrum HNMR S_4 dibandingkan dengan spektrum HNMR artemisinin standar. Pelarut yang digunakan adalah $CDCl_3$ dan senyawa referensi tetrametilsilan (TMS). Spektrum S_4 memiliki kesamaan dengan spektrum artemisinin standar, gambar perbandingan spektrum HNMR S_4 dengan spektrum HNMR artemisinin standar dapat dilihat pada gambar 4.16 dan data spektrum HNMR S_4 dapat dilihat pada tabel 4.5. Pada S_4 terdapat pula puncak pada (δ : 0,86-0,89/ triplet), (δ : 0,91-0,99/multiplet), (δ : 1,25/singlet), (δ : 7,04/singlet), dan (δ : 7,44/singlet), kemungkinan adalah pengotor yaitu lemak atau senyawa hidrokarbon yang terletak pada daerah *up field* (δ : 0,00-2,00) dan senyawa aromatik yang terletak pada daerah δ : 6,00-9,00. Hasil ini menunjukkan bahwa S_4 adalah artemisinin serta masih mengandung pengotor yaitu kemungkinan lemak/senyawa hidrokarbon dan senyawa aromatik.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Isolat S₄ hasil isolasi fraksi heksan ekstrak herba *Artemisia annua L.* yang dibudidayakan di Lembang (Jawa Barat), mengandung komponen utama artemisinin.
2. Isolat S₄ yang didapat sebanyak 2,0 mg (0,016% b/b), menunjukkan karakter yang mirip dengan artemisinin standar.

5.2. Saran

1. Agar proses isolasi menjadi lebih efektif dan efisien, sebaiknya dilakukan optimalisasi pada setiap tahapan yang dilakukan dalam mengisolasi artemisinin dari *Artemisia annua L.*
2. Sebaiknya dilakukan penyesuaian dan peningkatan budidaya *Artemisia annua L.* sehingga diharapkan artemisinin yang didapatkan lebih banyak.

DAFTAR ACUAN

- Vasanth S, RH Gopal, RB Rao.(1990). *Plant Antimalarial Agents*. J. of Science & Industrial Research. 49:68-77.
- Tjitra E. (1994). *Obat-obat Baru Antimalaria*. Cermin Dunia Kedokteran. 94:17-23.
- Fulong Liao. (2009). *Discovery of Artemisinin Qinghaosu*. Molecules. 15: 5362-5366.
- Tan, RX, Zheng, WF, Tang, H.Q. (1998). *Biological Active substances from the genus Artemisia*. Planta Medica. 64: 295-302.
- Aryanti, Tri ME, et al. (2006). *Uji Daya Antimalaria Artemisia spp.Terhadap Plasmodium Falciparum*. Majalah Farmasi Indonesia. 17(2): 81-84.
- Marcel Hommel. (2008). *The Future of Artemisinins: Natural, Synthetic or Recombinant?.* Journal of Biology. 7:38.
- Casteel, DA. (1997). *Antimalarial Agents*. Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery. Vol. 5, Ed.5, Bab 59.
- Purwatiningsih. (2003). *Isolasi Artemisinin Dari Artemisia Sacrorum Ledeb dan Turunannya Sebagai Komponen Bioaktif Antimalaria*. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Klayman DL, AJ Lin, et al (1984). *Isolation of Artemisinin (qinghaosu) From Artemisia Annuia Growing in United States*. Journal of Natural Products. 47(4): 715-717.
- Klayman DL. (1993). *Artemisia Annuia From Weed to Espectable Antimalarial Plant*. Hal 242-250.
- Keasling JD, et al. (2006). *Production of The Antimalarial Drug Precursor Artemisinic Acid in Engineered Yeast*. Nature 2006. 440: 940-943.
- Keasling JD, et al. (2008). *Induction of Multiple Pleiotropic Drug Resistance genes in Yeast Engineered To Produce An Increased Level of Anti-malarial Drug Precursor*. BMC Biotechnol 2008. 8:83.
- ElSohly HN, et al. (1990). *A Large Scale Extraction Technique of Artemisinin From Artemisia Annuia*. Journal of Natural Products. 53(6):1560-1564.
- Geldre E Van, et al. (1997). *State of Art of The Production of Antimalarial Compound Artemisinin in Plants*. Planta Moleculer Biology 33:199-209.
- O'neil MJ et al. (1985). *Plants As Sources of Antimalarial Drug, Part I: In Vitro Test Method For The Evaluation of Crude Extracts From Plants*. Planta Medica 5: 394-398.

- Acton N, et al. (1993). *Synthesis and Antimalarial Activity of Some 9-Substituted Artemisinin Derivatives*. J. Med. Chem. 36: 2552-2557.
- SR Ruben, et al. (2009). *Isolation, Characterization and Quantification of Artemisinin by NMR From Argentinean Artemisia annua L.* Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas. 8(4): 275-281.
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Henry Lai, et al. (2004). *Effects of Artemisinin-tagged Holotransferrin on Cancer Cells*. Life Sciences. 76(2005): 1267-1279.
- Skoog D.A., Leary J. (1992). *Principles of Instrumental Analysis. Fourth Edition*. Saunders College Publishing. USA. 252-288, 629-623.
- Gritter, R., Bobbit, J., Schwarting, A. (1985). *Pengantar Kromatografi*. Terbitan Kedua. Terj dari Introduction to chromatography oleh Padmawinata K. ITB Bandung.
- Stuart, Barbara. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamental and Application*. Inggris: John Wiley & Sons.
- Anonim. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. X, 333-337.
- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 9-12.
- Gritter, R., Bobbit, J., Schwarting, A. (1985). *Pengantar Kromatografi*. Terbitan Kedua. Terj dari Introduction to chromatography oleh Padmawinata K. ITB Bandung.
- Qu, H., et al. (2009). *Crystallization For The Isolation and Purification of Artemisinin From Crude Extracts of Artemisia Annua: Feasibility And Challenges*. Finlandia: BIWIC. 37-44.
- Gusmaini dan Hera Nurhayati. 2007. *Potensi Pengembangan Budidaya Artemisia annua L. di Indonesia*. Perspektif Vol 6 No 2 (2007): 57-67.
- [Http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/1055-bersama-kita-berantas-malaria.html](http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/1055-bersama-kita-berantas-malaria.html). Puskom Depkes RI. 2009. 17 Agustus 2010, pkl. 14:47 WIB.
- [Http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/). WHO Media Center. 17 Agustus 2010, pkl. 12:22 WIB.

<http://macro.lsu.edu/HowTo/solvents/Dielectric%20Constant%20.htm>. Burdick & Jackson. 10 Oktober 2010, pkl. 03:57 WIB.

<http://www.plantamor.com/index.php?plant=139>. 18 Desember 2010, Pkl. 09:00 WIB.

<http://tanamanobat.org/118/anuma/>. 18 Desember 2010, Pkl 09:05 WIB.







Gambar 3.2.2.1. Spektrofotometer infra merah FTIR 8400 S (Shimadzu).



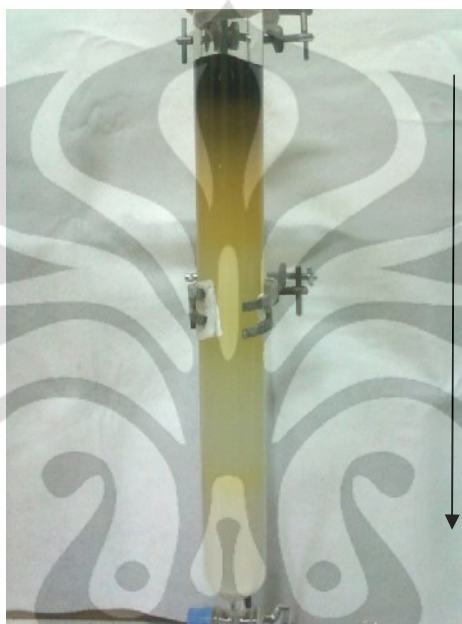
Gambar 3.2.2.2. *TLC Scanner III* (Camag).



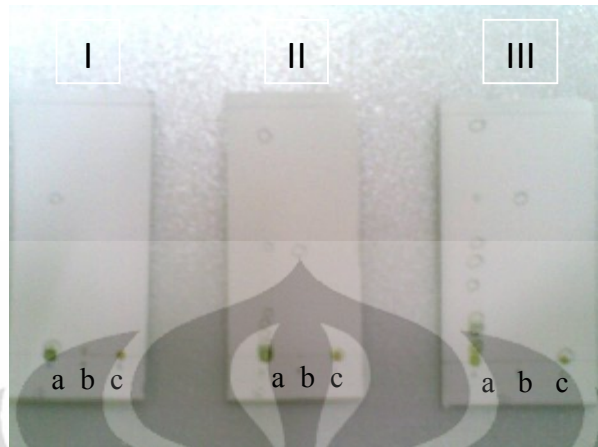
Gambar 3.2.2.3. Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1601).



Gambar 3.2.2.4. Alat penentu titik lebur (Stuart Scientific).



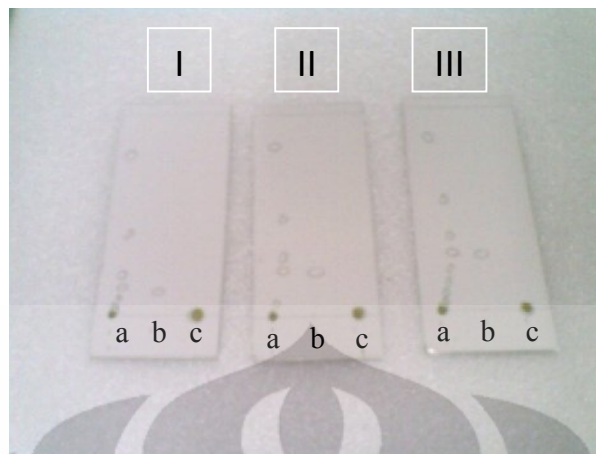
Gambar 4.1. Alat kolom Kromatografi.



Gambar 4.2. Hasil KLT (a = ekstrak heksan; b = artemisinin standar; c = ekstrak metanol) dengan menggunakan fase gerak (I= heksan; II= etil asetat-heksan (5:95); III= etil asetat-heksan (10:90)) dan fase diam silika gel 60 F₂₅₄.



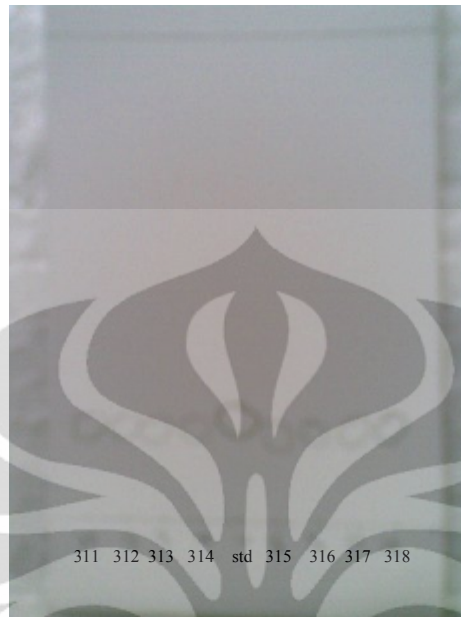
Gambar 4.3. Hasil KLT (a = ekstrak heksan; b = artemisinin standar; c = ekstrak metanol) dengan menggunakan fase gerak (I= etil asetat-heksan (15:85); II= etil asetat-heksan (20:80); III= etil asetat-heksan (25:75)) dan fase diam silika gel 60 F₂₅₄.



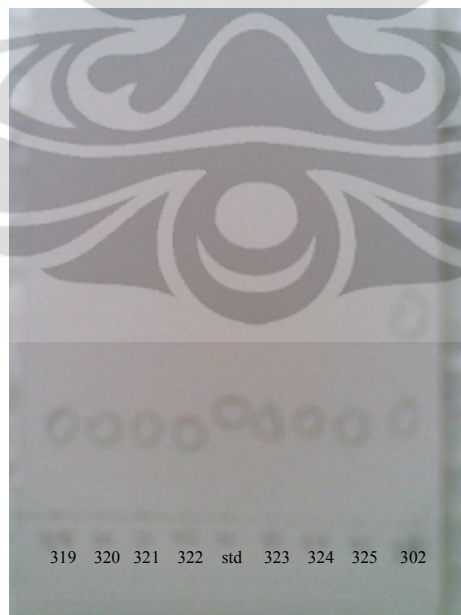
Gambar 4.4. Hasil KLT (a = ekstrak heksan; b = artemisinin standar; c = ekstrak metanol) dengan menggunakan fase gerak (I= etil asetat-heksan (2:98); II= etil asetat-heksan (3:97); III= etil asetat-heksan (4:96)) dan fase diam silika gel 60 F₂₅₄.



Gambar 4.5. Hasil kromatografi lapis tipis vial 303-310 dengan fase gerak etil asetat-heksan (3:97) dan fase diam silika gel 60 F₂₅₄.



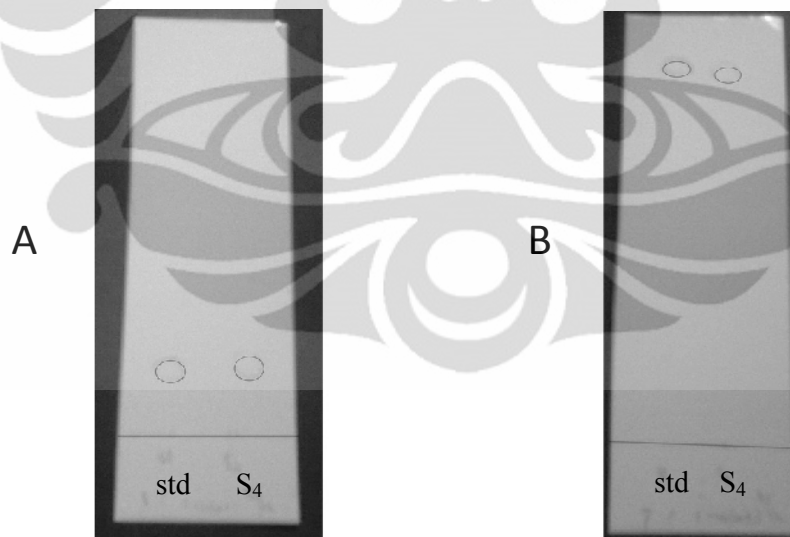
Gambar 4.6. Hasil kromatografi lapis tipis vial 311-318 dengan fase gerak etil asetat-heksan (3:97) dan fase diam silika gel 60 F₂₅₄.



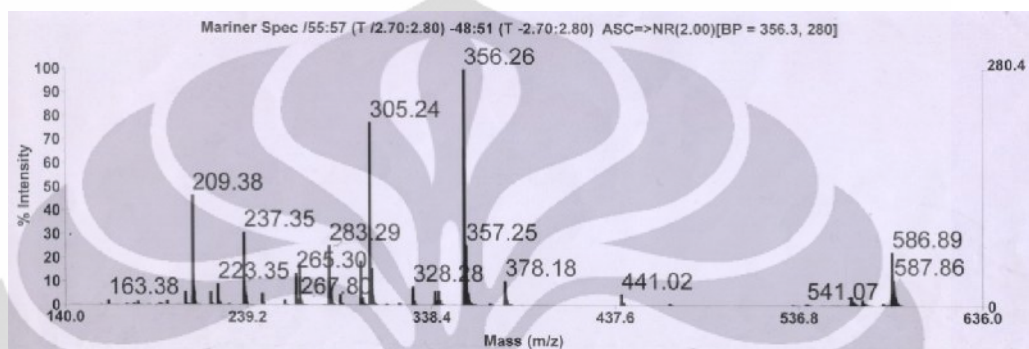
Gambar 4.7. Hasil kromatografi lapis tipis vial 319-325 dan vial 302, dengan fase gerak etil asetat-heksan (3:97) dan fase diam silika gel 60 F₂₅₄.



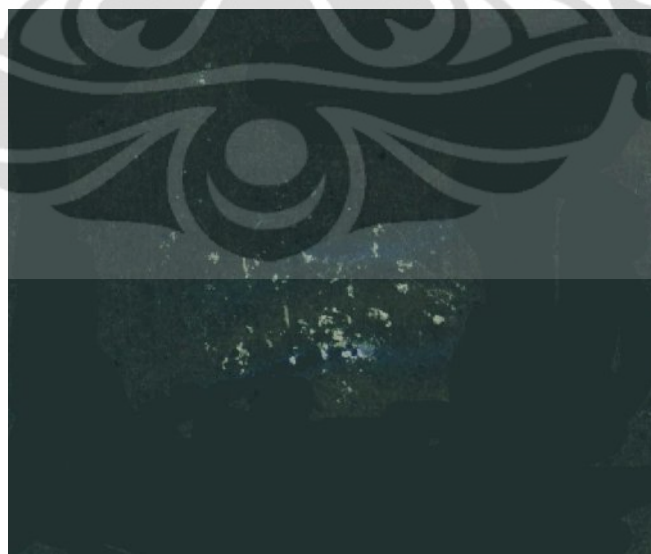
Gambar 4.8. Hasil optimasi kromatografi lapis tipis pemisahan S_0 dengan fase gerak etil asetat-heksan (7:93) dan teknik penotolan cara pita.



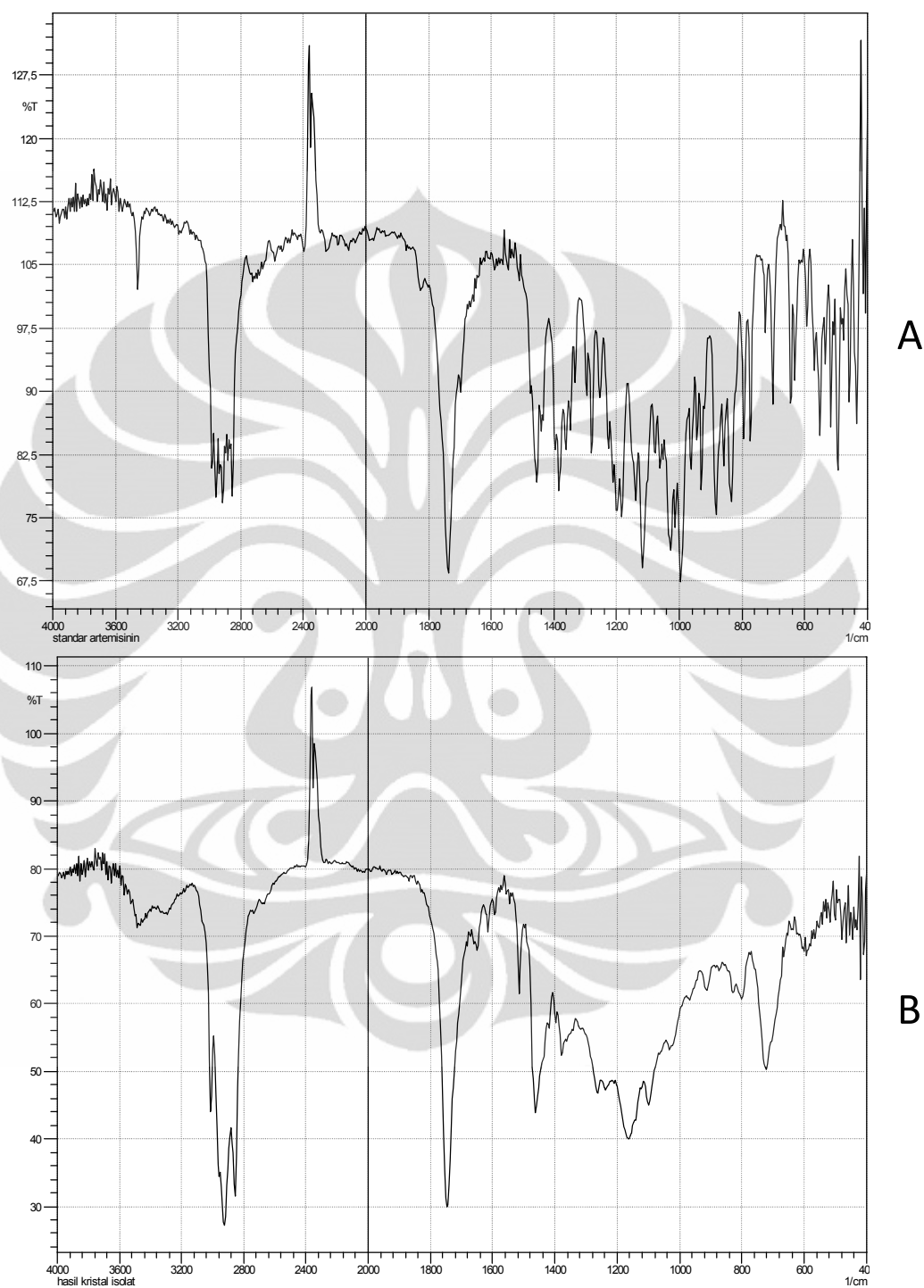
Gambar 4.9. Hasil kromatografi lapis tipis isolat S_4 dan artemisinin standar dengan fase gerak (A) etil asetat-heksan (3:97) dan fase gerak (B) etil asetat-heksan (7:93).



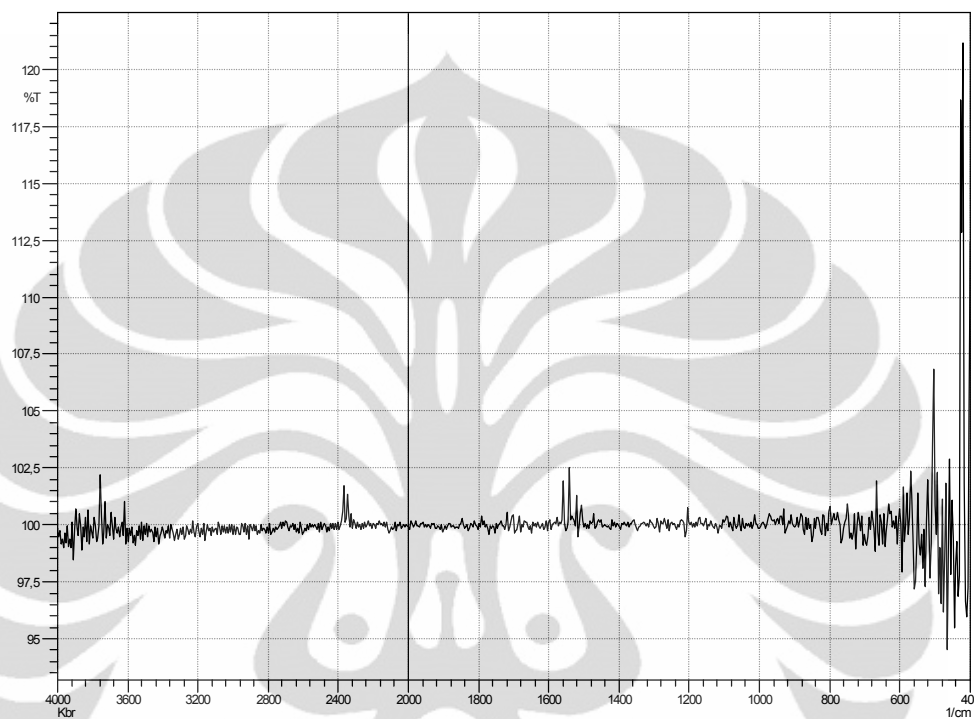
Gambar 4.10. Kromatogram LC-MS ekstrak heksan.



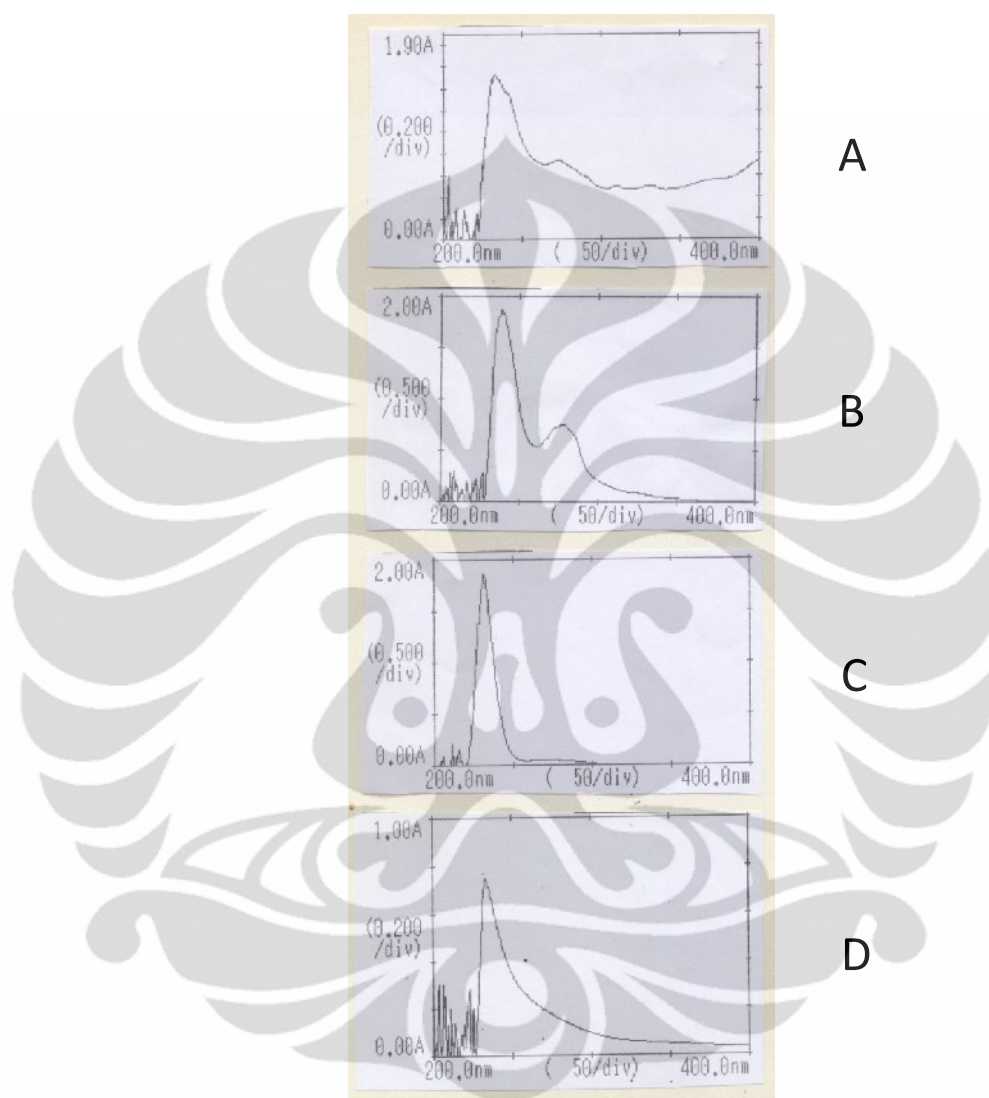
Gambar 4.11. Gambar Kristal isolat S₄.



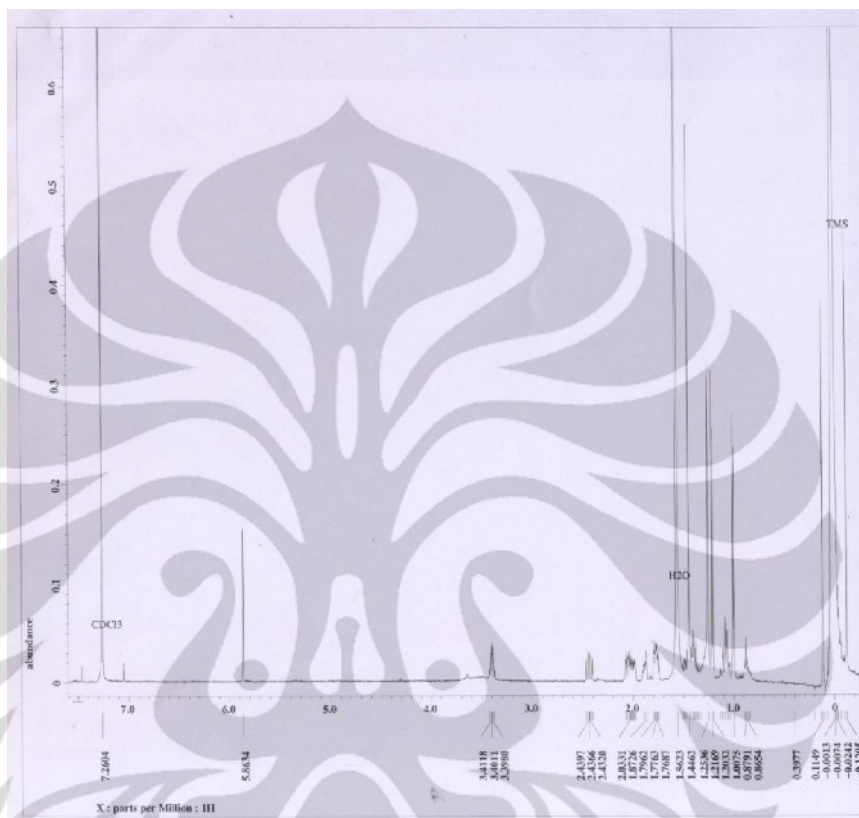
Gambar 4.12. Perbandingan spektrum IR artemisinin standar (A) dan isolat S_o (B).



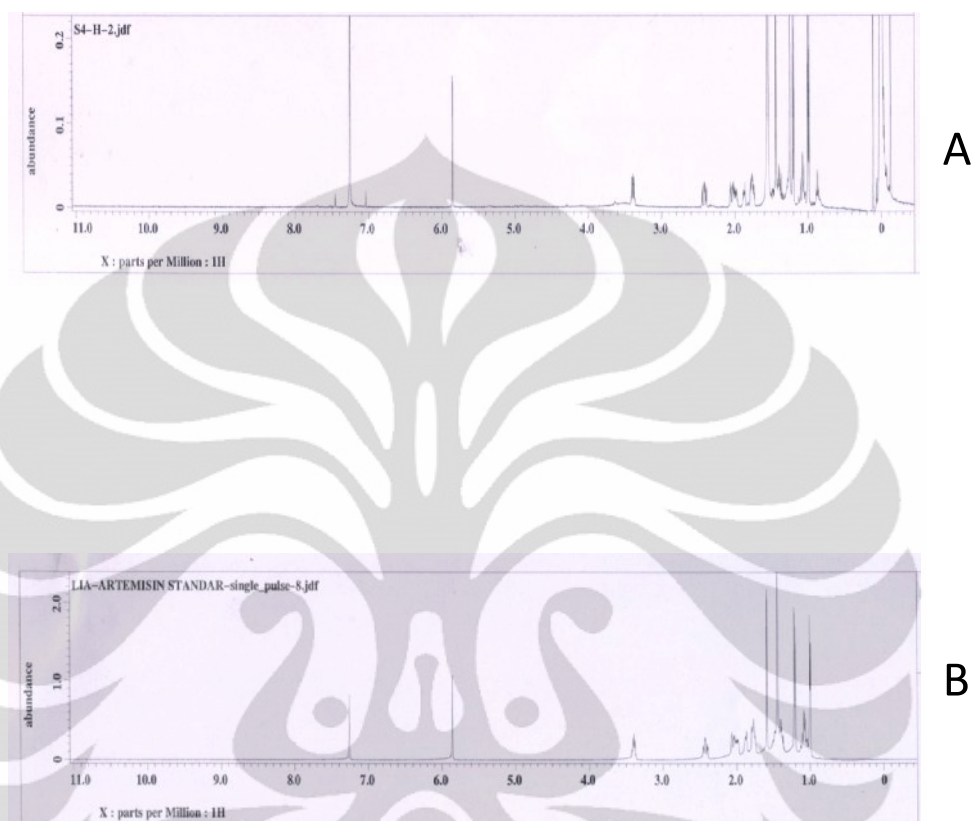
Gambar 4.13. Spektrum IR *baseline* KBr.



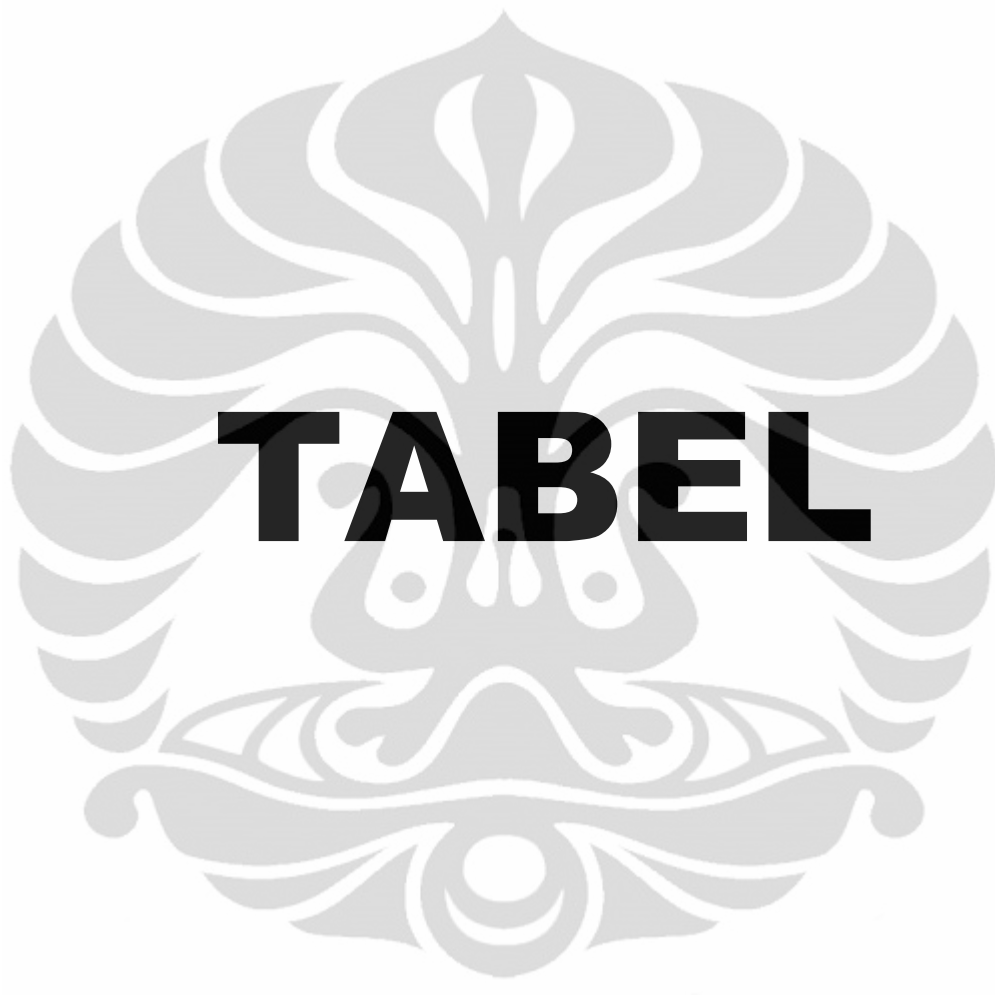
Gambar 4.14. Perbandingan spektrum UV ekstrak heksan (A), isolat S₀ (B), isolat S₄ (C), dan artemisinin standar (D) pada λ 200-400nm dan pelarut methanol.



Gambar 4.15. Spektrum HNMR isolat S₄ sebagai pelarut digunakan CDCl₃ dan senyawa referensi tetrametilsilan (TMS).



Gambar 4.16. Perbandingan spektrum HNMR isolat S₄ (A) dengan artemisinin standar (B) sebagai pelarut digunakan CDCl₃.



Tabel 4.1.
Perbandingan spektrum Artemisinin standar dan S₀.

| Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) | | (Barbara Stuart, 2004) |
|--|----------------|--|
| Artemisinin standar | S ₀ | |
| 1183 | 1233 | Vibrasi ulur C-O |
| 1200 | 1266 | |
| 1450 | 1466 | Vibrasi tekuk -CH ₂ |
| | 1617 | Vibrasi ulur C=C alkena |
| | 1649 | |
| 1733 | 1749 | Vibrasi ulur C=O siklik keton dan C=O siklik ester |
| 2850 | 2866 | |
| 2917 | 2933 | Vibrasi ulur C-H alifatik |
| 2967 | 2966 | |
| | 3033 | Vibrasi ulur =C-H alkena |
| 3467 | 3499 | Pengotor |

Tabel 4.2.
Perbandingan nilai R_f artemisinin pada optimasi fase gerak.

| Fase gerak | R _f |
|----------------------------|----------------|
| Heksan | 0 |
| Etil asetat-heksan (2:98) | 0,13 |
| Etil asetat-heksan (3:97) | 0,22 |
| Etil asetat-heksan (4:96) | 0,27 |
| Etil asetat-heksan (5:95) | 0,44 |
| Etil asetat-heksan (10:90) | 0,58 |
| Etil asetat-heksan (15:85) | 0,87 |
| Etil asetat-heksan (20:80) | 0,96 |
| Etil asetat-heksan (25:75) | 1,00 |

Tabel 4.3.
Perbandingan panjang gelombang maksimal (λ) spektrofotometer UV.

| Sampel | λ maksimal (nm) |
|---------------------|-------------------------|
| Ekstrak heksan | 232 dan 276 |
| S ₀ | 232 dan 276 |
| S ₄ | 232 |
| Artemisinin standar | 232 |

Tabel 4.4.
Perbandingan nilai Rf isolat S₄ dengan artemisinin standar.

| Sampel | Nilai Rf | |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|
| | Etil asetat-heksan (3:97) | Etil asetat-heksan (7:93) |
| Artemisinin standar | 0,18 | 0,91 |
| S ₄ | 0,18 | 0,92 |

Tabel 4.5.
Perbandingan nilai pergeseran kimia spektrum HNMR isolat S₄ dengan artemisinin standar.

| Pergeseran kimia | | Jenis pergeseran kimia |
|---------------------|----------------|------------------------|
| Artemisinin standar | S ₄ | |
| | 0,86-0,89 | triplet |
| | 0,91-0,99 | multiplet |
| 0,99-1,00 | 0,99-1,00 | doublet |
| 1,04-1,13 | 1,04-1,13 | multiplet |
| 1,20-1,21 | 1,20-1,21 | doublet |
| | 1,25 | singlet |
| 1,37-1,41 | 1,37-1,41 | multiplet |
| 1,42-1,46 | 1,42-1,46 | triplet |
| 1,47-1,49 | 1,47-1,49 | kuartet |
| 1,50-1,51 | 1,50-1,51 | doublet |
| 1,74-1,79 | 1,76-1,79 | multiplet |
| 1,87-1,89 | 1,87-1,89 | multiplet |
| 1,98-2,04 | 1,97-2,04 | multiplet |
| 2,06-2,08 | 2,06-2,08 | triplet |
| 2,39-2,42 | 2,40-2,41 | doublet |
| 2,42-2,44 | 2,43-2,44 | kuartet |
| 2,45-2,47 | 2,45-2,47 | doublet |
| 3,36-3,42 | 3,37-3,43 | multiplet |
| 5,86 | 5,86 | singlet |
| | 7,04 | singlet |
| | 7,47 | singlet |



Lampiran 1.
Persentase Rendeman.

1. Rendemen ekstrak heksan

Berat simplisia serbuk : 103 gram

Berat ekstrak heksan : 6 gram

$$\begin{aligned}\text{Persentase rendemen ekstrak heksan} &= (6/103) \times 100\% \\ &= 6\%\end{aligned}$$

2. Rendemen isolat S₄

Berat isolat S₄ : 2,0 mg

Berat S₀ pada KLT preparatif : 25,0 mg

Berat S₀ total : 172,4 mg

Berat simplisia serbuk : 103000 mg

$$\begin{aligned}\text{Persentase rendemen isolat S}_4 &= (6/5) \times (172,4/25,0) \times (2,0/103000) \times 100\% \\ &= 0,016 \%\end{aligned}$$

Lampiran 2.
Pengukuran ukuran partikel serbuk.

| Wadah | Bobot wadah (gram) | Bobot wadah+serbuk (gram) | Bobot serbuk (mg) | Persen serbuk (%) |
|----------------------------------|--------------------|---------------------------|-------------------|-------------------|
| mesh 16 (0.8 μm) | 324.3 | 324.4 | 100 | 0.126582278 |
| mesh 25 (0.63 μm) | 313.6 | 313.8 | 200 | 0.253164557 |
| mesh 35 (0.50 μm) | 290.2 | 291.1 | 900 | 1.139240506 |
| penampung | 359.2 | 437 | 77800 | 98.48101266 |
| | | total= | 79000 | 100 |

