

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN LD₅₀ EKSTRAK ETIL ASETAT JAMUR
ENDOFIT BS BUNGA SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata*) PADA MENCIT
PUTIH (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains



Oleh:

RADIA SAGITA PRAMESTI

NIM. 18036094

**PROGRAM STUDI KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG**

2022

PERSETUJUAN SKRIPSI

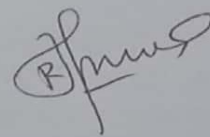
UJI TOKSISITAS AKUT DAN LD₅₀ EKSTRAK ETIL ASETAT JAMUR ENDOFIT BS BUNGA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*)

Nama : Radia Sagita Pramesti
NIM : 18036094
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 21 November 2022

Mengetahui :
Kepala Departemen Kimia

Disetujui Oleh :
Pembimbing



Budhi Oktavia S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 19721024 199803 1 001

Dra. Iryani, MS
NIP. 19620113 198603 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

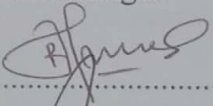
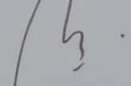
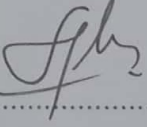
Nama : Radia Sagita Pramesti
NIM : 20036094
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

UJI TOKSISITAS AKUT DAN LD₅₀ EKSTRAK ETIL ASETAT JAMUR ENDOFIT BS BUNGA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*)

Dinyatakan Lulus setelah dipertahankan didepan Tim Penguji Skripsi
Program Studi Kimia Departemen Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 21 November 2022

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
Ketua	: Dra. Iryani, MS	
Anggota	: Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si.	
Anggota	: Dra. Sri Benti Etika, M.Si	

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Radia Sagita Pramesti
NIM : 18036094
Tempat/Tanggal Lahir : Tapan. 24 Oktober 2000
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Judul Skripsi : **UJI TOKSISITAS AKUT DAN LD₅₀ EKSTRAK
ETIL ASETAT JAMUR ENDOFIT BS BUNGA
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) PADA
MENCIT PUTIH (*Mus musculus*)**

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Karya tulis/skripsi ini adalah hasil karya saya dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar akademik (sarjana) baik di UNP maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain kecuali tim pembimbing.
3. Pada karya tulis/skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain kecuali tertulis dengan jelas dicantumkan pada kepustakaan.
4. Karya tulis/skripsi ini sah apabila telah ditandatangani **Asli** oleh tim pembimbing dan tim penguji.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran di dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima **Sanksi Akademik** berupa pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh karena karya tulis/skripsi ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Padang, 21 November 2022
Yang Menyatakan



Radia Sagita Pramesti
NIM : 18036094

**Uji Toksisitas Akut dan LD₅₀ Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit BS
Bunga Sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada
Mencit Putih (*Mus musculus*)**

Radia Sagita Pramesti

ABSTRAK

Jamur endofit BS memiliki aktivitas antibakteri sehingga berpotensi untuk dijadikan suatu obat. Oleh karena itu perlu diketahui keamanan dari jamur tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat toksisitas dan nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit BS pada mencit. Metode yang digunakan untuk menentukan tingkat toksisitas dan penentuan nilai LD₅₀ yaitu metode Thompson and Weil serta pengaruh pemberian ekstrak terhadap berat badan mencit di analisis dengan ANOVA. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30gram yang dibagi menjadi 5 kelompok. Pemberian ekstrak dilakukan secara oral dengan variasi dosis 1000, 2000, 4000 dan 8000 mg/kgBB. Hasil penelitian didapatkan tidak ada mencit yang mati pada kelompok uji, walaupun demikian terdapat gejala toksik seperti terjadi penurunan aktifitas motorik pada mencit ditandai dengan pergerakan mencit yang melambat, kaki belakang menjadi lumpuh dan lemas. Hal ini dikarenakan alkaloid mempunyai cara kerja mengganggu sistem saraf. Selain itu juga terjadi gejala salivasi dan urinasi juga terjadi, hal ini dikarenakan zat aktif yang terdapat dalam ekstrak jamur endofit BS terabsorpsi dalam saluran pencernaan kemudian mengalami proses distribusi dan metabolisme. Produk metabolisme yang bersifat toksik bekerja sebagai inhibitor enzim untuk tahap metabolisme selanjutnya. Reaksi antara zat aktif dengan reseptor dalam organ efektor menyebabkan timbulnya gejala tersebut. sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit BS adalah semu >8000 mg/kgBB dengan kategori tidak toksik.

Kata Kunci: Jamur Endofit BS, Toksisitas Akut, LD₅₀, Mencit Putih (*Mus musculus*)

**Cute Toxicity Test and LD50 of Endophytic Mushroom Ethyl Acetate Extract
BS Sambiloto flower (*Andrographis paniculata*) in
White Mice (*Mus musculus*)**

Radia Sagita Pramesti

ABSTRACT

BS endophytic fungus has antibacterial activity so it has the potential to be used as a drug. So it must be known the safety of these mushrooms. This study aims to determine the level of toxicity and the LD50 value of the ethyl acetate extract of BS endophytic fungi in mice. The method used to determine the level of toxicity and determine the LD50 value is the Thompson and Weil method. The test animals used were female white mice aged 2-3 months with a body weight of 20-30 grams which were divided into 5 groups. The extract was administered orally with various doses of 1000, 2000, 4000 and 8000 mg/kg BW. The results showed that no mice died in the test group, however, there were toxic symptoms such as a decrease in motor activity in mice characterized by slowed movements of mice, hind legs becoming paralyzed and weak. This is because alkaloids have a way of working to interfere with the nervous system. In addition, symptoms of salivation and urination also occur, this is because the active substance contained in the BS endophytic mushroom extract is absorbed in the digestive tract and then undergoes a process of distribution and metabolism. Toxic metabolic products work as enzyme inhibitors for the next metabolic step. The reaction between the active substance and the receptors in the effector organs causes these symptoms. so that it can be concluded that the apparent Ld50 value was >8000 mg/kgBB of mice in the relatively non-toxic category.

Keywords: Endophytic Fungus BS, Acute Toxicity, LD₅₀, White Mice (*Mus musculus*)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi dengan judul **“Uji Toksisitas Akut dan LD₅₀ Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit BS dari Bunga Sambiloto (*Andropis paniculata*) Pada Mencit (*Mus musculus*)”** dapat diselesaikan sebagaimana mestinya. Skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi untuk menyelesaikan mata kuliah tugas akhir pada Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan dan arahan serta dukungan dari berbagai pihak. Maka untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Dra. Iryani, M.S selaku Penasehat Akademik sekaligus Pembimbing Tugas Akhir.
2. Bapak Dr. Riga S.Pd., M. Si selaku Dosen Pembimbing dalam Peremajaan Jamur
3. Ibu Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si dan ibu Dra. Sri Benti Etika, M.Si selaku Dosen Pembahas.
4. Bapak Budhi Oktavia, S.Si., M.Si., Ph.D selaku Kepala Departemen Kimia dan Ketua Prodi Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.
5. Orang tua dan keluarga yang telah memberi dukungan berupa do'a dan materil dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu staf pengajar serta seluruh staf akademik dan non akademik di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.

7. Serta semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga bimbingan dan arahan serta dukungan dari berbagai pihak dapat menjadi amal jahiriah dan memperoleh balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Penulis mengharapkan masukan, bimbingan dan arahan yang membangun sehingga skripsi ini dapat dijadikan sebagai referensi untuk penelitian berikutnya. Atas masukan, bimbingan dan sarannya penulis ucapkan terimakasih.

Padang, November 2022

Radia Sagita Pramesti

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Identifikasi Masalah.....	4
C. Batasan Masalah	5
D. Rumusan Masalah	5
E. Tujuan Penelitian	5
F. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
D. Uji Toksisitas Akut.....	11
E. Penentuan LD ₅₀	13
F. Hewan Percobaan.....	14
BAB III METODE PENELITIAN.....	17
A. Waktu dan Tempat Penelitian	17
B. Sampel Penelitian	17
C. Variabel Penelitian.....	17
D. Rancangan Penelitian	17
E. Alat dan Bahan.....	20
F. Prosedur Penelitian.....	20
1. Pembuatan Media Jamur.....	20
2. Pembuatan Pereaksi	21
3. Skrining Fitokimia	23
4. Penentuan Dosis.....	24

5. Pembuatan Sediaan	24
6. Uji Toksisitas Akut	26
7. Analisis Data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
A. Penentuan Jumlah Ekstrak	29
B. Skrining Fitokimia	32
C. Uji Toksisitas Akut	36
D. Perhitungan LD ₅₀ dan Penentuan Status Keamanan	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42
A. Kesimpulan	42
B. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Tingkat Toksisitas Akut.....	12
2. Rancangan Penelitian.....	18
3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit BS.....	32
4. Pemberian Ekstrak Terhadap Berat Badan Mencit	36
5. Hasil Pengamatan Gejala Toksisitas Ekstrak Jamur Endofit B.....	39
6. Deskripsi Data Pengaruh Ekstrak uji Terhadap Berat Badan Mencit.....	52
7. Normalitas.....	52
8. Homogenitas.....	53
9. ANOVA.....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Jamur BS.....	9
2. Struktur Etil Asetat.....	10
3. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	15
4. Kurva Waktu Kultivasi Ekstrak BS.....	30
5. Reaksi Uji Mayer.....	34
6. Reaksi Uji Wegner.....	34
7. Grafik pengaruh pemberian ekstrak terhadap berat badan mencit.....	47
8. Pembuatan Media Nasi.....	54
9. Proses Kultivasi Jamur Endofit BS ke media nasi	54
10. Proses Maserasi.....	54
11. Hasil Maserasi Hari ke 1,2 dan 3.....	54
12. Proses Penguapan menggunakan <i>Rotary evaporator</i>	54
13. Hasil Pemekatan.....	54
14. Uji Positif Terpenoid.....	55
15 Uji Positif Alkaloid.....	55
16. Masa Aklimatisasi Mencit.....	55
17. Penimbangan Berat Bada Sebelum diberi Sediaan.....	55
18. Pemberiaan Tanda pada Mencit.....	55
19. Ekstrak Kental Jamur Endofit BS.....	55
20. Sediaan Uji Siap Pakai.....	55
21. Proses Penyondean Sediaan Uji.....	56
22. Mencit Beberapa Menit Setelah disonde.....	56
23. Mencit Setengah Jam Setelah disonde.....	56
24. Mencit Satu Jam Setelah disonde.....	56
25. Kelompok Kontrol Negatif.....	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Media PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>) dan Media Beras.....	47
2. Pembuatan Esktrak Jamur Endofit BS.....	48
3. Uji Toksisitas.....	49
4. Tabel Weil (Thompson & Weil cs 1952).....	50
5. Pemberian Tanda pada Hewan Uji.....	51
6. Hasil Perhitungan Statistik	52
7. Dokumentasi Penelitian.....	54

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Data WHO menyebutkan sekitar 80% dari penduduk dunia menggunakan sistem pengobatan secara tradisional yang mana bahan utamanya berasal dari tumbuhan. Selain obat tradisional, obat-obat modern yang beredar didunia pun tak lepas dari peranan bahan obat alami yang mana zat aktifnya diisolasi dari tumbuhan. (Mustapa *et al.*, 2017). Di Indonesia terdapat sekitar 30.000 jenis tanaman yang 7.000 spesies diantaranya memiliki khasiat obat. Tumbuhan tersebut menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologik yang beraneka ragam, memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan menjadi obat dalam berbagai penyakit (Jumiarni dan Komalasari, 2017).

Penelitian (Maksum, 2005) melaporkan permintaan obat herbal dipasaran saat ini sedang meningkat namun tingkat produksi obat herbal sangat terbatas karena sebagian besar bahan baku masih diambil dari tanaman aslinya sehingga dapat menyebabkan sumberdaya hayati ini suatu saat menjadi langka atau bahkan sampai punah dan sebagian besar bahan baku obat herbal yang diproduksi dan didistribusikan di Indonesia diimpor dari negara lain. Hal ini mengakibatkan kenaikan harga barang, serta peningkatan produksi yang diperkirakan akan terus berlanjut seiring dengan pertambahan penduduk. Salah satu tanaman yang banyak dilaporkan memiliki aktivitas biologi adalah *A. paniculata* atau lebih dikenal dengan sambiloto. Tanaman sambiloto (*A. paniculata*) telah banyak dimanfaatkan

secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, seperti pilek, radang amandel, radang usus dan demam. Studi fitokimia sebelumnya melaporkan bahwa *A. paniculata* mengandung berbagai metabolit sekunder seperti saponin, alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan tanin (Dina, 2019).

Potensi tumbuhan obat juga berkaitan dengan mikroorganisme yang hidup di jaringan tumbuhan. Mikroorganisme tersebut adalah mikroba yang hidup secara berkoloni di dalam jaringan tumbuhan tanpa merugikan inangnya. Mikroba tersebut dikenal dengan mikroba endofit (Andriana, *et al.*, 2012). Jamur endofit adalah mikroorganisme yang hidup secara berkolonisasi dalam hampir semua jaringan tumbuhan, seperti akar, bunga, daun, buah, dan ranting (Riga *et al.*, 2019). Setiap tumbuhan tingkat tinggi memiliki beberapa mikroba endofit yang mengandung berbagai metabolit sekunder. Kemampuan dari jamur endofit yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang sama ataupun berbeda dengan tumbuhan inangnya merupakan suatu potensi dalam mendapatkan sumber bahan obat yang alami, murah dan ramah lingkungan sehingga bisa dijadikan sebagai alternatif dan sebagai sumber senyawa aktif yang terbarukan (Dompeipen & Simanjuntak, 2015).

Total estimasi jamur endofit yang ada di dunia adalah sekitar satu juta spesies dan baru 10% yang telah dilakukan kajian fitokimianya (Jia M, *et al.*, 2016). Dengan demikian masih banyak spesies jamur endofitik yang belum dieksplorasi kandungan kimianya. Salah satu jamur endofit yang baru ditemukan oleh Aulia Suhanah, R *et al.* (2021) dengan kode BS dari tumbuhan sambiloto (*A. paniculata*) yang berpotensi sebagai antibakteri, hal ini dikarenakan jamur endofit

BS dari bunga sambiloto (*A. paniculata*) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menghambat proses pembentukan membran atau dinding sel bakteri. Penelitian Najiha (2016) melaporkan bahwa ekstrak etil asetat sambiloto (*Andrographis paniculata*) termasuk kategori aman dengan nilai LD₅₀ 2000 mg/kg BB. Sehingga variasi dosis ekstrak yang diberikan pada mencit untuk uji toksisitas dan LD₅₀ jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*Andrograpsis paniculata*) adalah 1000, 2000, 4000, dan 8000 Mg/Kg BB, hal ini dikarenakan uji toksisitas dan LD₅₀ jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*Andrographis paniculata*) belum pernah dilaporkan.

Berdasarkan kesepakatan yang ditetapkan oleh WHO suatu bahan/zat yang digunakan untuk tujuan pengobatan baik untuk manusia maupun hewan harus melalui tahap uji, yaitu uji praklinik dan uji klinik. Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 760/menkes/per/XI/1992 menyatakan bahwa obat tradisional harus dapat dibuktikan khasiat maupun keamanannya. Adapun uji praklinik adalah tahap uji yang tujuannya untuk mengetahui tingkatan keamanan khasiat dari suatu bahan/zat yang masih dalam dugaan, sehingga secara ilmiah dilakukan uji toksisitas dan uji aktivitas (Meles, 2010).

Pengetahuan tentang khasiat dan keamanan obat tradisional di Indonesia dapat diterima pelayanan kesehatan dengan berlandaskan pada pengalaman empiris dan didukung oleh data ilmiah tentang keamanan penggunaan obat pada hewan maka dari itu diperlukan serangkaian pengujian seperti uji toksisitas, uji khasiat dan uji klinik. Dalam penelitian ini akan menguji toksisitas akut dari jamur

endofit BS yang diisolasi dari bunga sambiloto (*A. paniculata*) sehingga dapat diketahui dosis dan efek toksisitas dari penggunaannya serta keamanannya untuk kemudian hari digunakan dalam pengembangan obat.

Uji Toksisitas akut adalah salah satu uji-praklinik. Uji ini dilakukan untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat, yaitu 24 jam pertama setelah pemberiannya dalam dosis tunggal. Pada uji toksisitas akut menggunakan tolak ukur kuantitatif yaitu (LD_{50}) untuk mengetahui kisaran dosis letal atau toksik suatu senyawa. Toksisitas dapat dilihat dari nilai LD_{50} yaitu dosis suatu zat atau ekstrak yang memberikan respon kematian 50%.

Berdasarkan hasil penelitian Suhanah (2021) yang menyatakan jamur endofit dengan kode BS yang diisolasi dari bunga sambiloto (*A. paniculata*) sebagai sumber senyawa antibakteri, mengingat potensi jamur endofit BS yang cukup besar sebagai obat antibakteri dan menilai LD_{50} pada uji toksisitas menjadi salah satu syarat uji praklinis dalam pengembangan obat tradisional, maka penulis telah melakukan penelitian terkait tentang “Uji Toksisitas dan LD_{50} Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit BS dari Bunga Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Pada Mencit (*Mus musculus*)”.

B. Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat diidentifikasi masalah sebagai berikut:

1. Produksi obat herbal yang berasal dari tanaman aslinya secara terus menerus dapat menyebabkan sumberdaya hayati punah.

2. Kajian tentang toksisitas LD₅₀ dari ekstrak etil asetat jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*A. paniculata*) belum pernah dilaporkan sehingga belum diketahui tingkat keamanannya dan belum efektif untuk dikembangkan menjadi obat.

C. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah menentukan tingkat toksisitas dan LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*A. paniculata*).

D. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana tingkat toksisitas ekstrak etil asetat jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*A. paniculata*) terhadap mencit (*Mus musculus*)?
2. Berapa nilai LD₅₀ pada ekstrak etil asetat jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*A. paniculata*) yang diberikan pada mencit putih (*Mus musculus*) dengan variasi dosis 1000, 2000, 4000, dan 8000 mg/kg BB?

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan tingkat toksik ekstrak etil asetat jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada mencit putih (*Mus musculus*).

2. Menentukan nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang diberikan secara peroral pada mencit (*Mus musculus*).

F. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi mengenai tingkat toksik dan nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit BS dari bunga sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada mencit putih (*Mus musculus*).