

**UJI TOKSISITAS AKUT DAN LD₅₀ EKSTRAK ETIL ASETAT
JAMUR ENDOFIT RS-2 RANTING SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata*) PADA MENCIT
PUTIH (*Mus musculus*)**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains



**Oleh :
RIZKA PURWANTI
NIM.18036095**

**PROGRAM STUDI KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2022**

PERSETUJUAN SKRIPSI

Judul : Uji Toksisitas Akut dan LD₅₀ Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit
RS-2 Ranting Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Pada
Mencit Putih (*Mus musculus*)
Nama : Rizka Purwanti
NIM : 18036095
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 18 November 2022

Mengetahui:

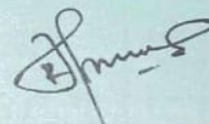
Kepala Departemen Kimia



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

Disetujui Oleh:

Dosen Pembimbing



Dra. Iryani, M.S
NIP. 19620113 198603 2 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

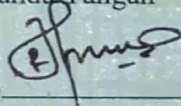
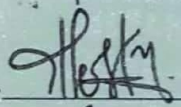
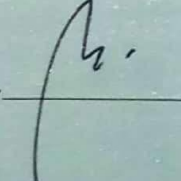
Nama : Rizka Purwanti
NIM : 18036095
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

UJI TOKSISITAS AKUT DAN LD₅₀ EKSTRAK ETIL ASETAT JAMUR ENDOFIT RS-2 RANTING SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) PADA MENCIT PUTIH (*Mus musculus*)

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

Padang, 18 November 2022

Tim Penguji:

No	Jabatan	Nama	Tanda Tangan
1	Ketua	Dra. Iryani, M.S	1. 
2	Anggota	Hesty Parbuntari, S.Pd., M.Sc	2. 
3	Anggota	Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si	3. 

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizka Purwanti
NIM : 18036095
Tempat/Tanggal lahir : Lubuk Tarab/ 25 Januari 2000
Program Studi : Kimia
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Judul Skripsi : **Uji Toksisitas Akut dan LD₅₀ Ekstrak Eti! Asetat Jamur Endofit RS-2 Ranting Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*)**

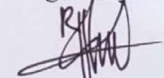
Dengan ini menyatakan bahwa:

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/skripsi ini murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan 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 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, 18 November 2022

Yang menyatakan


Rizka Purwanti
NIM. 18036095

**Uji Toksisitas Akut Dan LD₅₀ Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit RS-2
Ranting Sambiloto (*Andrographis paniculata*)
Pada Mencit Putih (*Mus musculus*)**

Rizka Purwanti

ABSTRAK

Jamur endofit RS-2 merupakan jamur yang berhasil diisolasi dari ranting tanaman sambiloto yang memiliki kandungan metabolit sekunder berupa senyawa alkaloid, terpenoid, steroid dan fenolik. Jamur RS-2 juga memiliki aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sehingga berpotensi untuk dijadikan suatu obat yang alami, murah, dan ramah lingkungan. Parameter awal untuk dapat dijadikan suatu obat harus dilakukan uji keamanan dari jamur tersebut dengan menentukan tingkat toksisitas dan LD₅₀ nya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat toksisitas dan nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 pada mencit. Uji toksisitas dan LD₅₀ ditentukan dengan menggunakan metode Thompson and Weil. Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih betina yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram yang di bagi menjadi 5 kelompok. Pemberian ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 dilakukan secara oral dengan variasi dosis 1000 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, 4000 mg/kgBB dan 8000 mg/kgBB. Mencit diamati pada 30 menit pertama setelah pemberian sediaan uji, 4 jam dan 24 jam selama 14 hari. Data dianalisis secara statistik menggunakan program SPSS (*Statistical Program for Social Science*) dengan uji ANOVA satu arah. Hasil penelitian menunjukkan munculnya gejala toksisitas pada sistem pernapasan, perubahan aktivitas, perilaku, autonomik dan sensorik. Data perubahan berat badan mencit didapatkan hasil uji ANOVA dengan nilai signifikansi $p \geq 0.05$ yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Pada penentuan nilai LD₅₀ didapatkan tidak ada satupun mencit yang mati pada kelompok uji sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai LD₅₀ semu >8000 mg/kgBB mencit dengan kategori relatif tidak toksik.

Kata Kunci : Jamur Endofit RS-2, Toksisitas Akut, LD₅₀, Mencit (*Mus musculus*)

**Acute Toxicity Test and LD₅₀ Ethyl Acetate Extract of RS-2 Endophytic
Fungus Twigs Sambiloto (*Andrographis paniculata*)
In White Mice (*Mus musculus*)**

Rizka Purwanti

ABSTRACT

RS-2 endophytic fungus is a fungus that has been isolated from bitter plant twigs and contains secondary metabolites in the form of alkaloids, terpenoids, steroids, and phenolic compounds. RS-2 fungus also has antibacterial activity that can inhibit the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria so has the potential to be used as a natural, inexpensive, and environmentally friendly drug. The initial parameters to be used as a drug must be tested for the safety of the fungus by determining the level of toxicity and its LD₅₀. This study aimed to determine the level of toxicity and the LD₅₀ value of ethyl acetate extract of RS-2 endophytic fungus in mice. The toxicity test and LD₅₀ were determined using 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 administration of ethyl acetate extract of endophytic fungus RS-2 was carried out orally with various doses of 1000 mg/kgBW, 2000 mg/kgBW, 4000 mg/kgBW, and 8000 mg/kgBW. Mice were observed in the first 30 minutes after administration of the test preparation, 4 hours, and 24 hours for 14 days. The data were analyzed statistically using the SPSS (Statistical Program for Social Science) program with a one-way ANOVA test. The results showed the emergence of symptoms of toxicity in the respiratory system, and changes in activity, behavior, autonomic and sensory. Data on changes in body weight of mice obtained ANOVA test results with a significance value of $p \geq 0.05$ which showed no significant difference. In determining the LD₅₀ value, none of the mice died in the test group, so it can be concluded that the pseudo LD₅₀ value was >8000 mg/kg BW mice with a relatively non-toxic category.

Keywords : Endophytic Fungus RS-2, Acute Toxicity, LD₅₀, Mice (*Mus musculus*)

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Identifikasi Masalah	4
C. Batasan Masalah	4
D. Rumusan Masalah	5
E. Tujuan Penelitian	5
F. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Jamur Endofit Pada Tanaman Sambiloto	6
B. Ekstraksi dengan Pelarut Etil Asetat	10
C. Uji Toksisitas Akut	12
D. Penentuan LD ₅₀	13
E. Mencit Putih (<i>Mus musculus</i>)	15
BAB III METODE PENELITIAN	17
A. Waktu dan Tempat Penelitian	17
B. Sampel dan Hewan Uji	17
C. Variabel Penelitian	17
D. Rancangan Penelitian	17
E. Alat dan Bahan	17
F. Prosedur Penelitian	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
A. Penentuan Jumlah Ekstrak Jamur Endofit RS-2	26
B. Skrinning Fitokimia	27
C. Uji Toksisitas Akut	31
D. Penentuan Nilai LD ₅₀	36

BAB V PENUTUP.....	38
A. Kesimpulan.....	38
B. Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Penggolongan tingkat toksisitas akut.....	14
2. Rancangan penelitian	18
3. Hasil skrinning fitokimia ekstrak RS-2.....	28
4. Pengamatan gejala toksisitas ekstrak etil jamur RS-2 pada mencit.....	32
5. Pengaruh pemberian ekstrak terhadap berat badan mencit	34
6. Data jumlah hewan uji yang mati.....	37
7. Deskripsi pengaruh ekstrak terhadap perubahan berat badan mencit	51
8. Hasil uji normalitas	51
9. Hasil uji homogenitas.....	52
10. Hasil uji ANOVA.....	52

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. Bentuk Morfologi Jamur Endofit RS-1 dan RS-2.....	9
2. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	15
3. Kurva pertumbuhan jamur endofit RS-2.....	26
4. Reaksi uji Dragendorff.....	29
5. Reaksi uji Mayer	29
6. Reaksi uji Fenolik	30
7. Grafik pengaruh pemberian ekstrak terhadap berat badan mencit.....	35
8. Morfologi jamur endofit RS-2	53
9. Pembuatan media tumbuh beras (nasi)	53
10. Kultivasi jamur RS-2 pada media nasi.....	53
11. Kultivasi hari-3.....	54
12. Kultivasi hari-6.....	54
13. Kultivasi hari-9.....	54
14. Kultivasi hari-12.....	54
15. Kultivasi hari-14.....	54
16. Permukaan jamur RS-2	54
17. Ekstraksi dengan pelarut etil asetat	55
18. Hasil Penyaringan maserasi hari-1,2 dan 3	55
19. Pemekatan ekstrak dengan Rotary Evaporator	55
20. Ekstrak Pekat etil asetat jamur endofit RS-2.....	56
21. Hasil Uji Fitokimia.....	56
22. Proses Aklimatisasi dan pengelompokkan hewan uji	56
23. Penimbangan berat badan mencit sebelum diberikan perlakuan	57
24. Pemberian tanda pada masing-masing hewan uji	57
25. Pembuatan sediaan ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2	57
26. Pemberian sediaan uji	58
27. Pengamatan gejala toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji.....	58

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
1. Pembuatan Media PDA dan Media Beras.....	44
2. Kultivasi dan Ekstraksi Jamur Endofit RS-2	45
3. Uji Toksisitas Akut	46
4. Tabel Weil	47
5. Pemberian tanda pada hewan uji.....	50
6. Hasil Perhitungan statistik	51
7. Dokumentasi Penelitian_	53

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Toksisitas Akut dan LD₅₀ Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit RS-2 Ranting Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*)”**. Skripsi ini diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada :

1. Ibu Dra. Iryani, M.S selaku Penasehat Akademik dan Pembimbing Tugas Akhir yang telah memberikan bimbingan serta arahan selama proses pengerjaan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Riga, S.Pd., M.Si yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama penelitian.
3. Ibu Hesty Parbuntari, S.Pd., M.Sc dan Ibu Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si selaku tim pembahas pada ujian skripsi ini.
4. Bapak Budhi Oktavia, M.Si, Ph.D selaku Ketua Departemen Kimia sekaligus Ketua Program Studi Kimia FMIPA UNP.
5. Bapak dan ibu staf pengajar serta staf akademik dan non akademik di Departemen Kimia FMIPA UNP.
6. Kedua Orang tua dan seluruh keluarga tercinta yang telah memberikan dukungan berupa do`a dan materil dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Serta semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Semoga segala bimbingan, bantuan dan arahan yang telah diberikan dapat menjadi amal kebaikan dan memperoleh balasan dari Allah SWT. Penulis mengharapkan masukan dan saran yang membangun dari semua pihak, sehingga skripsi ini bisa sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya. Atas masukan dan saran yang diberikan penulis ucapkan terima kasih

Padang, November 2022

Penulis

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam, dimana terdapat sekitar 30.000 jenis tanaman, yang 7.000 spesies diantaranya berkhasiat sebagai obat (Jumiarni & Komalasari, 2017). Kekayaan sumber daya alam ini berasal dari hutan tropis Indonesia yang diperkirakan mencapai 143 juta ha, dimana terdapat 80 % tanaman obat yang ada di dunia tumbuh disana (Medicinal, 2015). Oleh karena itu, Indonesia dijuluki sebagai negara *mega-biodiversity* yaitu negara yang memiliki keanekaragaman hayati lebih banyak dari negara-negara lain, dan kekayaan alam berupa aneka jenis tumbuhan obat ini sangatlah bermanfaat bagi masyarakat untuk kesehatan (Muhlisah, 2007).

Penggunaan obat tradisional dalam upaya mempertahankan kesehatan masyarakat telah lama diketahui, sampai saat ini 80% penduduk dunia masih memilih menggunakan pengobatan tradisional. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa tumbuhan, hewan, mineral, sediaan cairan (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku dimasyarakat (BPOM, 2014).

Obat-obatan yang dijual diseluruh dunia hingga saat ini, diperkirakan 30% berasal dari bahan alam. Di Amerika Serikat sekitar 25 % dari obat yang diresepkan, komposisi utamanya adalah produk alami yang berasal dari tanaman dan turunannya (Tejesvi, 2007). Namun tingkat produksi obat herbal saat ini masih

sangat terbatas karena sebagian besar bahan baku masih diambil dari tanaman aslinya, hal ini menyebabkan sumber daya alam hayati suatu saat nanti bisa punah karena meningkatnya permintaan obat herbal. Bahkan disinyalir bahan obat herbal yang diproduksi dan diedarkan di Indonesia saat ini sebagian besar bahan bakunya sudah mulai diimpor dari negara lain (Radji, 2005).

Salah satu tanaman obat yang banyak dilaporkan memiliki manfaat adalah tanaman sambiloto (*A. paniculata*). Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), tanaman ini telah dimasukkan dalam daftar tanaman unggulan yang dapat dikembangkan dalam industri farmasi, karena memiliki kandungan metabolit sekunder yang sangat bermanfaat (Royani et al., 2014). Studi fitokimia sebelumnya melaporkan bahwa tanaman sambiloto mengandung berbagai metabolit sekunder seperti saponin, alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan tannin (Amalia, 2019).

Potensi tumbuhan obat juga berhubungan dengan mikroorganisme yang hidup di jaringan tumbuhan tersebut. Mikroorganisme tersebut dikenal sebagai mikroba endofit, salah satu diantaranya yaitu jamur endofit. Jamur endofit adalah jamur yang hidup di dalam jaringan tumbuhan pada waktu tertentu dan memiliki kemampuan membentuk koloni tanpa membahayakan tanaman inangnya (Murdiyah, 2017). Setiap tumbuhan tingkat tinggi dapat mengandung jamur endofit yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang didapat sebagai transfer genetik dari tumbuhan inangnya ke dalam jamur endofit (Kusari et al., 2012). Kemampuan jamur endofit menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya ini merupakan peluang untuk mendapatkan sumber bahan obat yang alami, murah dan ramah lingkungan.

Telah banyak kajian tentang jamur endofit terbukti memiliki potensi ekonomi yang tinggi sebagai bahan baku obat. Beberapa peneliti telah berhasil mengisolasi jamur endofit dari tumbuhan inangnya, membiakkan jamur endofit tersebut ke dalam media sintetik dan menghasilkan metabolit sekunder yang sesuai dengan kandungan kimia di dalam tumbuhan inangnya tersebut. Penelitian sebelumnya telah dilakukan oleh (Al Khairi et al., 2021) yang berhasil mengisolasi jamur endofit RS-2 dari ranting tumbuhan sambiloto (*A. paniculata*), hasil penelitiannya menunjukkan bahwa jamur endofit yang terdapat di dalam ranting tumbuhan sambiloto (*A. paniculata*) mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, fenolik, steroid dan terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri sehingga dapat dikembangkan untuk penemuan obat baru.

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/IX/1992 menyatakan bahwa obat yang berasal dari tanaman harus dapat dibuktikan khasiat maupun keamanannya. Adapun uji praklinik adalah tahap uji yang tujuannya untuk mengetahui dan menetapkan tingkatan keamanan dan kebenaran khasiat dari suatu bahan/zat uji yang masih dalam dugaan, sehingga secara ilmiah dilakukan uji toksisitas dan uji aktivitas (Meles, 2010).

Uji toksisitas merupakan suatu uji yang dapat mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi agar memperoleh data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga

dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia. Parameter awal yang diperlukan untuk mengevaluasi keamanan suatu obat atau pun ramuan tradisional yaitu uji toksisitas akut. Toksisitas akut merupakan uji yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik yang terjadi dalam waktu singkat. Sekaligus uji toksisitas akut juga dapat menentukan nilai LD₅₀ yaitu dosis suatu zat atau ekstrak yang memberikan respon kematian 50%. Berdasarkan hal tersebut penulis telah melakukan penelitian yang berjudul “Uji Toksisitas Akut dan LD₅₀ Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit RS-2 Ranting Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*)”.

B. Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat diidentifikasi masalah sebagai berikut:

1. Produksi obat herbal yang berasal dari tanaman aslinya secara terus-menerus dapat menyebabkan sumber daya alam hayati punah.
2. Kajian tentang toksisitas akut dan LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 ranting sambiloto (*A. paniculata*) belum pernah dilaporkan, sehingga belum diketahui tingkat keamanannya.

C. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian yaitu penentuan tingkat toksisitas dan LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 ranting sambiloto (*A. paniculata*) yang dilakukan pada mencit putih (*Mus musculus*).

D. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana tingkat toksisitas ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 ranting sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap mencit putih (*Mus musculus*)?
2. Berapa nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 ranting sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang diberikan pada mencit putih (*Mus musculus*) dengan variasi dosis 1000 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB, 4000 mg/kgBB dan 8000 mg/kgBB ?

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Menentukan tingkat toksisitas ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 ranting sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada mencit putih (*Mus musculus*).
2. Menentukan nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 ranting sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang diberikan pada mencit putih (*Mus musculus*).

F. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi mengenai tingkat toksisitas dan nilai LD₅₀ ekstrak etil asetat jamur endofit RS-2 ranting sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada mencit putih (*Mus musculus*)