

**ISOLASI SENYAWA STEROID DARI JAMUR ENDOFIT RS-1
PADA RANTING TUMBUHAN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata*)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains



**Oleh:
MELISA YOLANDA
NIM.18036132/2018**

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

PERSETUJUAN SKRIPSI

ISOLASI SENYAWA STEROID DARI JAMUR ENDOFIT RS-1 PADA RANTING TUMBUHAN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*)

Nama : Melisa Yolanda
NIM : 18036132
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, November 2022

Mengetahui
Ketua Jurusan Kimia



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

Disetujui Oleh
Pembimbing



Dra. Sri Benti Etika, M.Si.
NIP. 19620913 198803 2 002

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Melisa Yolanda
NIM : 18036132
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

ISOLASI SENYAWA STEROID DARI JAMUR ENDOFIT RS-1 PADA RANTING TUMBUHAN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*)

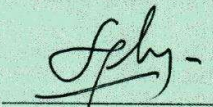
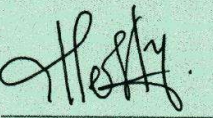
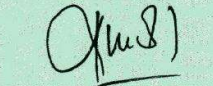
Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Padang

Padang, November 2022

Tim Penguji

No	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dra.Sri Benti Etika, M.Si.	
2. Anggota	: Hesty Parbuntari, S.Pd., M.Sc	
3. Anggota	: Trisna Kumala Sari, M.Si., Ph.D	

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:


Nama : Melisa Yolanda
NIM/TM : 18036132 / 2018
Tempat/Tanggal Lahir : Lubuk Basung / 16 Juli 1999
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Alamat : Kandang Payo Jorong Kubu Nan Limo
No. HP/Telp : 085283466641
Judul Skripsi : Isolasi Senyawa Steroid dari Jamur Endofit RS-1 pada Ranting Tumbuhan Sambilo (*Andrographis panicula*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis/skripsi ini adalah hasil karya saya dan belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar akademik (sarjana) baik di Universitas Negeri Padang 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. 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, November 2022
Yang membuat pernyataan


Melisa Yolanda
NIM. 18036132

**Isolasi Senyawa Steroid Dari Jamur Endofit Rs-1
Pada Ranting Tumbuhan Sambiloto
(*Andrographis paniculata*)**

Melisa Yolanda

ABSTRAK

Jamur endofit adalah jamur yang hidup bekoloni pada jaringan tumbuhan tanpa mengganggu tanaman inangnya. Jamur endofit merupakan salah satu sumber potensial yang dapat memproduksi metabolit sekunder yang sama atau berbeda dari tanaman inangnya. Jamur endofit dapat dikultivasi dalam rentang waktu yang singkat dan menghasilkan metabolit sekunder seperti steroid dengan jumlah yang banyak. Jamur endofit tumbuh dalam tanaman yang memiliki kandungan obat-obatan, salah satunya dilaporkan dari tumbuhan *Andrographis paniculata* (Sambiloto). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Anshar (2021) telah berhasil di isolasi jamur endofit dari ranting tumbuhan *A. paniculata* yang memiliki aktivitas antibakteri dan positif mengandung senyawa steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi jenis senyawa steroid yang terdapat dalam jamur endofit RS-1 yang diisolasi dari ranting *A. paniculata*. Metoda penelitian adalah eksperimen dengan tahapan kultivasi jamur endofit RS-1 pada media nasi. Metoda isolasi dengan maserasi menggunakan pelarut etil asetat, fraksinasi dengan kromatografi cair vakum (KCV). Pemisahan komponen kimia menggunakan metoda kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis (KLT). Uji kemurnian untuk senyawa hasil isolasi adalah dengan titik leleh dan KLT. Karakterisasi untuk senyawa hasil isolasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer inframerah. Hasil isolasi berupa kristal seberat 0,3437 gram dengan peleburan titik leleh 140,9°C. Kristal murni diidentifikasi sebagai senyawa steroid dengan pereaksi Liberman-Burchard (LB) menghasilkan warna kehijauan. Ikatan rangkap terkonyugasi C=C teridentifikasi pada spektrofotometer UV-Vis yang menghasilkan panjang gelombang 270 nm dan spektrofotometer inframerah menghasilkan gugus fungsional O-H, C-H, C=C, CH₃, =C-H, dan C=O.

Kata kunci: *Jamur endofit, A. paniculata, Steroid, isolasi, karakterisasi*

**Isolation Of Steroid Compounds From Endophytic Fungi Rs-1 On Sambiloto
Twig
(*Andrographis paniculata*)**

Melisa Yolanda

ABSTRACT

Endophytic fungi are fungi that live in colonies on plant tissues without disturbing the host plant. Endophytic fungi are one of the potential sources that can produce secondary metabolites that are the same or different from their host plants. Endophytic fungi can be cultivated in a short time span and produce large amounts of secondary metabolites such as steroids. Endophytic fungi grow in plants that contain medicinal properties, one of which is reported from the *Andrographis paniculata* (Sambiloto) plant. Based on research conducted by Anshar (2021), endophytic fungi have been isolated from twigs of the plant *A. paniculata* which have antibacterial activity and are positive for steroid compounds. This study aims to isolate and characterize the types of steroid compounds contained in the RS-1 endophytic fungus isolated from the twigs of *A. paniculata*. The research method was an experiment with the stages of cultivation of the RS-1 endophytic fungus on rice media. Isolation method by maceration using ethyl acetate solvent, fractionation by vacuum liquid chromatography (TLC). Separation of chemical components using column chromatography and thin layer chromatography (TLC). The purity test for the isolated compound is by melting point and TLC. Characterization of isolated compounds using UV-Vis spectrophotometer and infrared spectrophotometer. The results of the isolation are crystals weighing 0.3437 grams with a melting point of 140.9°C. Pure crystals were identified as steroid compounds with Liberman-Burchard reagent (LB) producing a greenish color. The C=C conjugated double bond was identified on UV-Vis spectrophotometer which produces a wavelength of 270 nm and infrared spectrophotometer produces functional groups O-H, C-H, C=C, CH₃, =C-H, and C=O.

Keywords: *Endophytic fungi, A. paniculata, Steroids, isolation, characterization*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, taufik serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi Senyawa Steroid dari Jamur Endofit RS-1 pada Ranting Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis paniculata*)”**. Shalawat beserta salam dikirimkan kepada Baginda Rasulullah Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini ditulis dengan tujuan untuk diseminarkan sebagai acuan dalam melaksanakan penelitian nantinya. Penulisan skripsi ini banyak mendapat bimbingan, petunjuk, saran, bantuan serta dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dra. Sri Benti Etika, M.Si selaku Dosen Pembimbing dan Penasehat Akademik.
2. Ibu Hesty Parbuntari, S,Pd.,M.Sc selaku Dosen Pembahas
3. Ibu Trisna Kumala Sari, M.Si., Ph.D selaku Dosen Pembahas
4. Bapak Budhi Oktavia, S.Si, M.Si, Ph.D selaku Ketua Prodi dan Ketua Jurusan Departemen Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.
5. Bapak Dr. Riga, S.Pd., M.Si selaku Dosen Kimia Organik yang telah membimbing, membantu serta memotivasi dalam penyusunan skripsi penelitian ini.

Sebagai tahapan dalam penyusunan skripsi ini, penulis meminta saran, kritik serta masukan yang bersifat membangun dari berbagai pihak sehingga peneliti ini dapat dengan baik.

Semoga segala bimbingan, arahan, masukan serta dukungan yang telah diberikan menjadi amal ibadah untuk semuanya dan mendapatkan balasan dari Allah SWT.

Padang, Oktober 2022

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Identifikasi Masalah.....	3
C. Batasan Masalah.....	4
D. Rumusan Masalah	4
E. Tujuan Penelitian.....	5
F. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tumbuhan Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	6
B. Jamur Endofit pada Tumbuhan Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	9
C. Steroid	10
D. Metoda Ekstraksi.....	19
E. Pemisahan Komponen Kimia	21

F. Uji Kemurnian	24
G. Karakterisasi.....	25
BAB III METODA PENELITIAN	31
A. Waktu dan Tempat Penelitian	31
B. Sampel Penelitian.....	31
C. Alat dan Bahan.....	31
D. Prosedur Penelitian.....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
A. Kultivasi / Fermentasi Jamur Endofit	39
B. Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Kimia	40
C. Isolasi Steroid.....	42
D. Uji Kemurnian.....	45
E. Karakterisasi	46
BAB V PENUTUPAN.....	51
A. Kesimpulan	51
B. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN.....	58

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	Halaman
1. Tumbuhan Sambiloto.....	7
2. Jamur Endofit RS-1.....	10
3. Struktur Umum Steroid.....	11
4. Struktur (1) Stigmasterol, (2) Ergosterol, (3) Campesterol, (4) Kolesterol dan (5) Sitosterol.....	12
5. Asam Kolat.....	13
6. (1) Estradiol, (2) Estron, (3) Progesteron, (4) Testosteron, dan (5) Estrio.....	14
7. (1) Aldosteron, (2) Kortisol.....	15
8. Aglikon Kardiak.....	15
9. Penomoran Steroid.....	16
10. Prinsip dan Cara Kerja Spektrofotometer UV-Vis.....	26
11. Uji Kemurnian dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	45
12. Reaksi Liebermann Burchard (LB) pada uji fitokimia.....	47
13. Spektrum Ultraviolet Kristal Steroid Hasil Isolasi.....	48
14. Spektrum Inframerah Kristal Steroid Hasil Isolasi.....	49
15. Kultivasi Jamur Endofit RS-1.....	58
16. Hasil Kultivasi Jamur Endofit RS-1 Setelah 3 Minggu (Waktu Optimasi)....	58
17. Proses Maserasi.....	59
18. Pemekatan dengan Rotary Evaporator.....	59
19. Hasil Ekstrak Peekat.....	59
20. Prose Kromatografi Cair Vakum.....	60
21. Hasil Kromatografi Cair Vakum.....	60

22. Hasil KCV dimonitoring dengan KLT.....	60
23. Ekstrak KCV Hasil Penggabungan	61
24. Hasil Penggabungan dimonitoring KLT	61
25. Uji Steroid Hasil Penggabungan	61
26. Hasil dimonitoring KLT sebelum Kromatografi Kolom	62
27. Proses Kromatografi Kolom	62
28. Uji Steroid Hasil Penggabungan Fraksi Kelompok 2 dan 3	62

DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Jenis-jenis Hidrokarbon Induk dari Steroid	16
2. Daftar Beberapa Daerah Serapan Jenis Ikatan dan Bilangan pada Spektrofotometer Inframerah	28
3. Perbandingan Eluen Fraksinasi	41
4. Pengelompokkan Fraksi KCV Hasil Penggabungan.....	42
5. Pengelompokkan Hasil Fraksi Kromatografi Kolom.....	44
6. Hasil Pengukuran Spektra Inframerah Kristal Steroid Hasil Isolasi	50

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	Halaman
1. Skema Kerja Isolasi Steroid dari Jamur Endofit Rs-1 pada Ranting Tumbuhan Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	58
2. Kultivasi dan Ekstraksi	58
3. Fraksinasi	60
4. Isolasi	62
5. Uji Titik Leleh.....	63
6. Reaksi Warna dengan Liebermann-Burchard	63
7. Kristal Steroid	63

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Antibiotik merupakan senjata yang efektif dalam melawan bakteri patogen, sehingga penggunaan antibiotik mengalami peningkatan yang mengakibatkan terjadinya resistensi antibiotik. Dimana bakteri dalam tubuh tidak dapat lagi dibunuh menggunakan antibiotik. Resistensi antibiotik, merupakan salah satu ancaman utama dalam bidang kesehatan yang dapat menimbulkan masalah yang serius dalam dunia kesehatan (Frieri *et al.*, 2016). Pada tahun 2020, Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) mempublikasikan daftar bakteri yang resistensi terhadap berbagai obat (Maglangit *et al.*, 2021). Bakteri patogen merupakan penyebab semakin resistensi terhadap pengobatan antibakteri yang ada. Bakteri yang resistensi terhadap banyak obat mengalami peningkatan yang pesat sehingga menyebabkan morbiditas dan mortalitas (Boudaher & Shaffer, 2019). Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan pencarian senyawa bioaktif yang dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri yaitu steroid.

Aktivitas antibakteri dari senyawa steroid, berkaitan dengan membran lipid dan kepekaan terhadap komponen steroid yang menyebabkan bocornya liposom sehingga keutuhan membran menurun serta berpengaruh terhadap morfologi membran sel yang menyebabkan sel rusak dan rusak (R. Sari *et al.*, 2017). Dilaporkan dari penelitian sebelumnya oleh Porras *et al.*, 2021 terdapat 4 senyawa golongan steroid yaitu polifilin G; stigmast-22-en-3,6-dion; stigmast-5-en-3 β -ol-21(24)-olida; dan stigmast-5-en-3 β -ol-23-on yang menunjukkan aktivitas

antibakteri yang tinggi. Selain dari tumbuhan alami, metabolit sekunder golongan steroid yang mempunyai aktivitas antibakteri juga dilaporkan dari organisme lain, yaitu jamur endofit.

Jamur endofit adalah jamur yang hidup berkoloni pada setiap jaringan tumbuhan dan umumnya hidup tanpa mengganggu tanaman inangnya. Secara garis besar, jamur endofit dapat menghasilkan senyawa aktif yang sama atau berbeda dengan tanaman inangnya. Jamur endofit dilaporkan sebagai salah satu sumber potensial yang dapat memproduksi metabolit sekunder (seperti steroid) yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Zhao *et al.*, 2012). Sintesis metabolit sekunder pada jamur endofit berbeda dengan tumbuhan, dimana jamur endofit ini dapat mensintesis berbagai metabolit sekunder dalam waktu yang relatif singkat sehingga mudah difermentasi dan dikultur. Oleh karena itu, jamur endofit dapat dikultivasi dalam rentang waktu yang singkat dan dapat memproduksi metabolit sekunder dengan jumlah banyak dengan waktu yang singkat (Wei *et al.*, 2020). Jamur endofit tumbuh dalam tanaman yang memiliki kandungan obat-obatan, salah satunya dilaporkan dari tumbuhan sambiloto.

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) tergolong tumbuhan obat yang dilaporkan mempunyai aktivitas antibakteri serta berpotensi sebagai inang yang baik bagi jamur endofit. Berdasarkan studi literatur terhadap tumbuhan *A. paniculata* berbagai bagian banyak digunakan dalam mengekstrak fitokimia aktif (Abu Bin Nyeem *et al.*, 2017). Lebih lanjut, pada bagian akar, daun dan bunganya juga sering dimanfaatkan sebagai ramuan tradisional (Jarukamjorn & Nemoto, 2008). *A. paniculata* mempunyai spektrum efek farmakologis yang luas dan beberapa diantaranya sangat bermanfaat seperti, antibakteri, hepatoprotektif,

antijamur, antioksidan, antiinflamasi, antipiretik, antikanker dan antioksidan. Berdasarkan hal tersebut, *A. paniculata* berpotensi sebagai inang yang baik untuk jamur endofit (Abu Bin Nyeem *et al.*, 2017).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Anshar *et al.*, 2021 mengindikasikan bahwa ekstrak etil asetat jamur endofit RS-1 pada ranting tumbuhan sambiloto memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pyogenes*. Berdasarkan uji fitokimia pada ekstrak etil asetat pada jamur endofit RS-1 dari ranting tumbuhan sambiloto menunjukkan positif steroid. Oleh sebab itu, penelitian lebih lanjut terkait isolasi metabolit sekunder golongan steroid pada ekstrak jamur endofit RS-1 ranting tumbuhan sambiloto ini perlu untuk dilanjutkan. Penelitian terkait isolasi senyawa steroid dari jamur endofit RS-1 yang berasosiasi dengan ranting tumbuhan sambiloto belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul **“Isolasi Senyawa Steroid dari Jamur Endofit RS-1 pada Ranting Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis paniculata*)”**.

B. Identifikasi Masalah

Berdasarkan dari latar belakang yang telah dijabarkan, sehingga dapat diidentifikasi masalah berikut ini:

1. Resistensi antibiotik merupakan salah satu ancaman bagi kesehatan masyarakat, sehingga perlu dilakukan pencarian senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri.
2. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak etil asetat jamur endofit RS-1 yang diisolasi dari ranting sambiloto memiliki aktivitas antibakteri sehingga diperlukan proses isolasi lebih lanjut.

3. Penelitian sebelumnya mengidentifikasi kandungan senyawa steroid pada jamur endofit RS-1 yang diisolasi dari ranting tumbuhan sambiloto.

C. Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini berdasarkan masalah yang telah diuraikan diatas adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah jamur endofit RS-1 yang diisolasi dari ranting tumbuhan sambiloto.
2. Isolasi senyawa steroid dari jamur endofit RS-1 pada bagian ranting dari tumbuhan sambiloto dilakukan dengan menggunakan metoda maserasi dengan pelarut etil asetat, fraksinasi dengan kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom. Uji kemurnian dilakukan menggunakan metoda kromatografi lapis tipis dan penentuan titik leleh.
3. Karakterisasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan pereaksi warna, spektroskopi UV-Vis dan spektroskopi-inframerah.

D. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah

1. Bagaimana mengisolasi senyawa steroid dari jamur endofit RS-1 pada ranting tumbuhan sambiloto.
2. Bagaimana mengkarakterisasi senyawa steroid dari jamur endofit RS-1 pada ranting tumbuhan sambiloto.

E. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah

1. Mengisolasi senyawa steroid yang terdapat dalam jamur endofit RS-1 yang diisolasi dari ranting tumbuhan sambiloto.
2. Mengkarakterisasi senyawa steroid yang terdapat dalam jamur endofit RS-1 yang diisolasi dari ranting tumbuhan sambiloto.

F. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah

1. Memberikan informasi terkait karakteristik senyawa steroid yang terdapat dalam jamur endofit RS-1 pada bagian ranting dari tumbuhan sambiloto.
2. Dapat menjadi sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya.