

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN
METABOLIT SEKUNDER FUNGI ENDOFIT DARI
DAUN BAYAM (*Amaranthus hybridus*)**



JONATHAN CHANDRA

2443018066

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2022

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN METABOLIT
SEKUNDER FUNGI ENDOFIT DARI DAUN BAYAM (*Amaranthus
hybridus*)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana
Farmasi Program Studi Strata I di Fakultas Farmasi Universitas Katolik
Widya Mandala

OLEH:

JONATHAN CHANDRA

2443018066

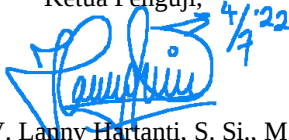
Telah disetujui pada tanggal 13 Juni 2022 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing,



Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt.
NIK 241.07.0609

Ketua Penguji,



Dr. F. V. Lanny Hartanti, S. Si., M. Si.
NIK 241.00.0437

LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Isolasi dan Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder Fungi Endofit dari Daun Bayam (*Amaranthus hybridus*)** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di *internet* atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta. Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 11 Juli 2022



Jonathan Chandra
2443018066

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 11 Juli 2022



Jonathan Chandra
2443018066

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN METABOLIT SEKUNDER FUNGI ENDOFIT DARI DAUN BAYAM (*Amaranthus hybridus*)

JONATHAN CHANDRA
2443018066

Daun tanaman Bayam Kakap (*Amaranthus hybridus*) yang berasal dari famili Amaranthaceae, yang telah digunakan untuk mengatasi kurang darah. Daun bayam juga memiliki kandungan metabolit sekunder golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid / steroid, dan fenolat yang berguna bagi kesehatan tubuh manusia. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengisolasi fungi endofit yang didapatkan dari daun tanaman Bayam Kakap (*Amaranthus hybridus*) yang selanjutnya dilakukan karakterisasi dan skrining fitokimia untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang dihasilkan fungi endofit dari daun tanaman Bayam Kakap. Proses isolasi dilakukan dengan cara menginokulasikan daun Bayam Kakap yang telah dilakukan sterilisasi permukaannya dengan menggunakan alkohol 70%, NaOCl 5,3% serta akuades pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 7-14 hari. Dari hasil isolasi diperoleh hanya 2 macam jenis fungi endofit. Fungi endofit yang telah diperoleh dilakukan karakterisasi melalui pengamatan secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia. Berdasarkan hasil karakterisasi, diduga genus dari fungi endofit DBK1 *Phialophora*, DBK2 *Aspergillus*. Fungi endofit yang telah melalui tahap karakterisasi selanjutnya difermentasi terlebih dahulu kemudian diuji skrining fitokimianya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan penyemprotan penampak bercak noda untuk mengetahui golongan metabolit sekundernya. Dari 2 macam fungi yang diperoleh fungi endofit DBK1 dan DBK2 masing-masing mengandung metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid, alkaloid, fenolat dan terpenoid / steroid.

Kata kunci: fungi endofit, golongan senyawa metabolit sekunder, daun tanaman bayam kakap, *amaranthus hybridus*

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE OF ENDOPHYTIC FUNGI OF BAYAM KAKAP (*Amaranthus hybridus*)

JONATHAN CHANDRA
2443018066

The leaves of Bayam Kakap (*Amaranthus hybridus*) plants from Amaranthaceae family had been widely used to reduce blood loss. The leaves of Bayam Kakap also contain secondary metabolite compounds of Flavonoids, Alkaloids, Terpenoids / Steroid, and Phenolic useful for human health. The purpose of this study is to isolate endophytic fungi from Bayam Kakap leaves (*Amaranthus hybridus*) and then further being characterized and phytochemical screening to know about the result of secondary metabolite from Bayam Kakap leaves. Isolation process was carried out by attaching the leaves of Bayam Kakap on *Potato Dextrose Agar* (PDA) after Bayam Kakap leaves surface had been sterilized with 70% alcohol and 5.3% NaOCl and also aquadest and being incubated at room temperature for 7-14 days. From the isolation process, 2 types of endophytic fungi were obtained. Based on the result of characterization, the suspected genus of endophytic fungi DBK1 and DBK2 were DBK1 *Phialophora*, and DBK2 *Aspergillus*. Endophytic Fungi that went through characterization process fermented first and then tested for Phytochemical screening using *Thin Layer Chromatography* (TLC) and then spraying phytochemical screening reagent to identify secondary metabolite compounds. From 2 types of fungi obtained, both types of endophytic fungi DBK1 and DBK2 have secondary metabolite compounds of Flavonoids, Alkaloids, Terpenoids / Steroid, and Phenolic.

Keywords: fungi endophytic, secondary metabolites compounds, leaf plant bayam kakap, *amaranthus hybridus*

KATA PENGANTAR

Puji Tuhan penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat, dan rahmat yang diberikan sehingga skripsi penulis dengan judul **“Isolasi dan Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder Fungi Endofit dari Daun Bayam (*Amaranthus hybridus*)”** dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan kelulusan gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi penulis tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini:

1. Puji Tuhan dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus atas berkat dan rahmat yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Kepada kedua orang tua saya Handy Chandra dan Ong Heny, serta kakak saudara saya, Joshua Chandra dan Natasha Chandra serta seluruh anggota keluarga atas doa, dukungan, nasihat dan motivasi yang diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan sepenuhnya dengan baik dan penulis dapat menyelesaikan pendidikan Strata-1 di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
3. apt. Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing I atas ilmu, saran, nasehat, semangat, tenaga, pikiran dan waktu yang telah banyak diluangkan untuk mendampingi penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
4. apt. Sumi Wijaya, S.Si, Ph.D selaku Penasihat Akademik dan Dekan yang telah memberikan pengarahan dari awal hingga akhir kuliah.

5. F. V. Lanny Hartanti, S. Si., M. Si. dan Suliati S.Pd, S.Si, M.Kes selaku penguji I dan II yang telah memberikan saran dalam penelitian.
6. apt. Dr. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
7. apt. Diga Albrian, S, S.Farm., Selaku Ketua Prodi S1 Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, yang telah menyediakan fasilitas dan pelayanan yang baik selama pengerjaan skripsi ini.
8. Seluruh dosen pengajar Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan dan mengajarkan ilmu tentang kefarmasian.
9. Pak Anto (laboran Lab. Mikrobiologi Farmasi), Pak Dwi, dan Pak Ari (laboran Lab. Penelitian) yang telah membantu selama proses pengerjaan skripsi ini.
10. Graciela Mahamudu sebagai pendengar, penyemangat untuk penulis, sahabat penelitian Felix Cewandri, Sintya Tanod, Claudia Oktaviana dan sahabat kampus Rency Winata Ong, Agnes Gunawan, Ivanaldo Ariesandy, Kevin Thejaya, Shinta Christy, Madeline Audrey, Charles Angyanan dan teman-teman lainnya yang tidak bisa dituliskan satu persatu yang selalu memberikan semangat, tenaga, doa dan dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan naskah skripsi ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
Semoga Tuhan Yesus membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan dibalaskan juga. Dengan seluruh keterbatasan pengetahuan, pustakan yang ditinjau, penulis

menyadari banyaknya kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, 11 Juli 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB 1: PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Hipotesis Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 : TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan tentang Tanaman Bayam Kakap	5
2.1.1 Deskripsi dan Manfaat Tanaman Bayam (<i>Amaranthus hybridus</i>).....	6
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Tanaman Bayam (<i>Amaranthus hybridus</i>).....	7
2.2 Tinjauan tentang Mikroba Endofit.....	8
2.3 Tinjauan Tentang Pengisolasian Fungi Endofit	9
2.4 Tinjauan Tentang Kultur Media untuk Pertumbuhan Fungi Endofit.....	10

	Halaman
2.5	Tinjauan Tentang Karakterisasi10
BAB 3	: METODE PENELITIAN12
3.1	Jenis Penelitian12
3.2	Bahan dan Alat Penelitian12
3.2.1	Bahan Penelitian12
3.2.2	Alat12
3.3	Metodologi Penelitian13
3.4	Variabel Penelitian14
3.4.1	Variabel Bebas14
3.4.2	Variabel Terkendali14
3.4.3	Variabel Tergantung14
3.5	Tahap Penelitian14
3.5.1	Proses Pengamatan secara Makroskopis dan Mikroskopis Pada Tanaman Bayam (<i>Amaranthus hybridus</i>)14
3.5.2	Isolasi Fungi Endofit Tanaman Bayam (<i>Amaranthus hybridus</i>)15
3.5.3	Pemurnian Fungi Endofit Tanaman Bayam (<i>Amaranthus hybridus</i>)15
3.5.4	Pembuatan Media15
3.5.5	Fermentasi Fungi Endofit16
3.5.6	Ekstraksi Fungi Endofit16
3.5.7	Karakterisasi Fungi Endofit16
3.5.8	Uji Skrining Fitokimia 18
BAB 4	: HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 20
4.1	Hasil Penelitian20
4.1.1	Determinasi Daun Bayam Kakap20
4.1.2	Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Daun

	Bayam Kakap.....	20
4.1.3	Isolasi Fungi Endofit dari Daun Bayam Kakap (<i>Amaranthus hybridus</i>)	23
4.1.4	Pemurnian Kultur Fungi Endofit dari Daun Bayam Kakap (<i>Amaranthus hybridus</i>)	25
4.1.5	Karakterisasi Fungi Endofit	26
4.1.6	Uji Biokimia Fungi Endofit.....	26
4.1.7	Hasil Skrining Fitokimia	29
4.1.8	Uji Skrining Fitokimia.....	32
4.2	Pembahasan	36
BAB 5	: KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1	Kesimpulan	43
5.2	Saran	43
	DAFTAR PUSTAKA	44
	LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1	Pengamatan makroskopis Daun Bayam Kakap (<i>Amaranthus hybridus</i>)22
Tabel 4.2	Hasil uji beda perendaman waktu sterilisasi pada daun Tanaman Bayam (<i>Amaranthus hybridus</i>)24
Tabel 4.3	Hasil pengamatan mikroskopis isolat Daun Bayam Kakap (<i>Amaranthus hybridus</i>)..... 26
Tabel 4.4	Hasil pengamatan uji biokimia isolate Daun Bayam Kakap (<i>Amaranthus hybridus</i>).....29
Tabel 4.5	Hasil Rf Skrining Fitokimia isolat DBK1 golongan senyawa Flavonoid, Alkaloid, Fenolat, dan Terpenoid Steroid setelah Eluasi menggunakan Fase Gerak n-butanol : asam asetat : air (3:1:1) dan setelah disemprot menggunakan Penampak Bercak Noda. (Metode DBK1).....33
Tabel 4.6	Hasil Rf Skrining Fitokimia isolat DBK2 golongan senyawa Flavonoid, Alkaloid, Fenolat, dan Terpenoid Steroid setelah Eluasi menggunakan Fase Gerak n-butanol : asam asetat : air (3:1:1) dan setelah disemprot menggunakan Penampak Bercak Noda. (Metode DBK2)34
Tabel 4.7	Hasil Uji Skrining Fitokimia fungi endofit daun Bayam Kakap eluasi menggunakan Fase Gerak n-butanol : asam asetat : air (3:1:1) dan setelah disemprot menggunakan Penampak Bercak Noda36

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Tanaman Daun Bayam Kakap (<i>Amaranthus hybridus</i>) 7
Gambar 4.1	Pengamatan makroskopis dan mikroskopis Daun Bayam Kakap (<i>Amaranthus hybridus</i>).....21
Gambar 4.2	Pengamatan mikroskopis daun Bayam Kakap dalam kloorhidrat dan fluorogusin HCl pada perbesaran 40x10.....22
Gambar 4.3	Pengamatan mikroskopis stomata tipe anisositik daun Bayam Kakap pada perbesaran 40x1023
Gambar 4.4	Pengamatan pertumbuhan fungi endofit dengan eksplan sebesar 1 x 1 cm dan 3 x 3 cm setelah inkubasi pada suhu ruang selama 5 hari.....23
Gambar 4.5	Kultur fungi endofit murni dari daun Tanaman Bayam Kakap (<i>Amaranthus hybridus</i> L.) setelah inkubasi pada suhu ruangan selama 7 hari25
Gambar 4.6	Hasil uji hidrolisa amilum fungi endofit daun tanaman Bayam Kakap pada media <i>Starch Agar</i>27
Gambar 4.7	Hasil uji hidrolisa kasein fungi endofit daun tanaman Bayam Kakap pada media <i>Skim Milk Agar</i>28
Gambar 4.8	Hasil uji hidrolisa lemak fungi endofit daun tanaman Bayam Kakap pada media <i>Neutral Red Agar</i>29
Gambar 4.9	Hasil fermentasi 14 hari fungi endofit30
Gambar 4.10	Hasil ekstraksi fungi endofit daun tanaman Bayam Kakap pada corong pisah menggunakan larutan etil asetat.....31
Gambar 4.11	Hasil penguapan fungi endofit daun tanaman Bayam Kakap.....32
Gambar 4.12	Hasil uji KLT isolat DBK1 setelah Eluasi menggunakan Fase Gerak n-butanol ; asam asetat ; air (3:1:1) dan penyemprotan bercak noda AlCl ₃ pada plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis) golongan Flavonoid, Gambar B merupakan hasil uji KLT isolat DBK1 golongan Alkaloid setelah

disemprot menggunakan Penampak Bercak
 Noda Dragendorf, gambar C merupakan hasil uji
 KLT isolat DBK1 golongan Fenolat setelah
 disemprot menggunakan Penampak Bercak Noda
 FeCl_3 dan Gambar D merupakan hasil uji KLT isolat
 DBK1 golongan Terpenoid / Steroid setelah
 disemprot menggunakan Penampak Bercak
 Noda Liebermann-Burchard33

Gambar 4.13

Hasil uji KLT isolat DBK2 setelah Eluasi
 menggunakan Fase Gerak n-butanol : asam asetat :
 air (3:1:1) dan penyemprotan bercak noda AlCl_3 pada
 plat KLT (Kromatografi Lapis Tipis) golongan
 Flavonoid, Gambar B merupakan hasil uji KLT
 isolat DBK1 golongan Alkaloid setelah
 disemprot menggunakan Penampak Bercak
 Noda Dragendorf, gambar C merupakan hasil uji
 KLT isolat DBK1 golongan Fenolat setelah
 disemprot menggunakan Penampak Bercak Noda
 FeCl_3 dan Gambar D merupakan hasil uji KLT isolat
 DBK1 golongan Terpenoid / Steroid setelah
 disemprot menggunakan Penampak Bercak
 Noda Liebermann-Burchard34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Surat Determinasi Kangkung Darat48