

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH ASAM
2,4-DIKLOROFENOKSIASETAT DAN KINETIN SERTA
PENAMBAHAN ELISITOR KITOSAN TERHADAP KADAR
ANDROGRAFOLID PADA KALUS SAMBILOTO
(*Andrographis Paniculata* Burm.f. Ness)**

SKRIPSI

**M Bayu Meyimas Tionory
A211022**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2025**

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH ASAM
2,4-DIKLOROFENOKSIASETAT DAN KINETIN SERTA
PENAMBAHAN ELISITOR KITOSAN TERHADAP KADAR
ANDROGRAFOLID PADA KALUS SAMBILOTO
(*Andrographis Paniculata* Burm.f. Ness)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**M Bayu Meyimas Tionory
A211022**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2025**

**PENGARUH KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH ASAM
2,4-DIKLOROFENOKSIASETAT DAN KINETIN SERTA
PENAMBAHAN ELISITOR KITOSAN TERHADAP KADAR
ANDROGRAFOLID PADA KALUS SAMBILOTO
(*Andrographis Paniculata* Burm.f. Ness)**

**M Bayu Meyimas Tionory
A211022**

Juli 2025

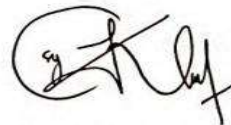
Disetujui oleh:

Pembimbing



Nur Asni Setiani, M.Si

Pembimbing



apt. Khairunnisa Sy, M.S.Farm

Kutipan atau saduran ini sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Skripsi ini kupersembahkan untuk kedua orang tua ibu Iharmi dan ayah Wiwin Kelana dan yang menjadi saksi perjalanan hidup, memberikan motivasi yang membangun semangat, selalu menjadi sosok yang tiada henti mendoakan, memberi kasih sayang serta dukungan materi untuk setiap langkah yang ku tempuh dalam mewujudkan cita-cita.

ABSTRAK

Andrographis paniculata merupakan tanaman herbal yang memiliki beragam aktivitas farmakologis seperti antiinflamasi, antioksidan dan antikanker. Namun, kandungan andrografolid alami pada tanaman cenderung rendah, sehingga diperlukan pendekatan bioteknologi seperti kultur jaringan dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) dan elisitor untuk meningkatkan produksinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ZPT 2,4-D dan kinetin serta elisitor kitosan dalam upaya meningkatkan kadar andrografolid pada kalus yang dihasilkan dari tanaman sambiloto. Dalam penelitian ini, kalus diinisiasi dari eksplan daun sambiloto pada media *Murashige and Skoog* (MS) dengan tiga variasi konsentrasi ZPT 2,4-D dan kinetin (2,5: 1,5 mg/L, 2 :1mg/L dan 1,5: 0,5 mg/L. Kalus yang terbentuk kemudian diekstraksi menggunakan metanol dan dianalisis secara kuantitatif menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk menentukan perlakuan terbaik sebelum diberi perlakuan elisitor kitosan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ZPT dengan konsentrasi 1,5 mg/L : 0,5 mg/L menghasilkan kandungan andrografolid tertinggi yaitu dengan rata-rata kadar 1,921%. Pada perlakuan elisitor kitosan 75 dan 100 ppm dengan waktu inkubasi 7 dan 9 hari, dianalisis kembali menggunakan KCKT dan hasil penelitian menunjukkan konsentrasi elisitor 100 ppm dengan waktu inkubasi 9 hari menghasilkan kadar andrografolid tertinggi yaitu 3,012%. Penambahan elisitor kitosan berpengaruh pada produksi andrografolid, pada konsentrasi 100 ppm hari ke 9 menghasilkan perlakuan paling optimal dalam merangsang peningkatan senyawa andrografolid pada kultur kalus sambiloto.

Kata kunci: *Andrographis paniculata*, ZPT 2,4-D dan kinetin, elisitor kitosan, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)

ABSTRACT

Andrographis paniculata is a medicinal plant with various pharmacological activities, such as anti-inflammatory, antioxidant, and anticancer properties. However, the natural andrographolide content in the plant tends to be low, making it necessary to apply biotechnological approaches such as plant tissue culture with the addition of plant growth regulators (PGRs) and elicitors to enhance its production. This study aimed to investigate the effect of adding the PGRs 2,4-D and kinetin and the elicitor chitosan in increasing andrographolide content in callus derived from *A. paniculata*. In this research, callus was initiated from *A. paniculata* leaf explants on Murashige and Skoog (MS) medium with three variations of 2,4-D and kinetin concentrations (2.5:1.5 mg/L, 2:1 mg/L, and 1.5:0.5 mg/L). The formed callus was then extracted using methanol and quantitatively analyzed by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) to determine the best treatment before applying the chitosan elicitor. The results showed that the combination of 1.5 mg/L 2,4-D : 0.5 mg/L kinetin yielded the highest andrographolide content, with an average of 1.921%. In the chitosan elicitor treatments (75 and 100 ppm) with incubation periods of 7 and 9 days, further analysis using HPLC revealed that the 100 ppm chitosan treatment with 9 days of incubation produced the highest andrographolide content, reaching 3.012%. The addition of chitosan elicitor significantly influenced andrographolide production, with the 100 ppm concentration at 9 days being the most optimal treatment to stimulate andrographolide accumulation in *A. paniculata* callus cultures.

Keywords: *Andrographis paniculata*, 2,4-D and kinetin PGRs, chitosan elicitor, high-performance liquid chromatography (HPLC)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha atas segala kasih karunia, penyertaan, dan hikmat yang telah diberikan sepanjang proses penyusunan skripsi ini, yang berjudul **"Pengaruh Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat dan Kinetin Serta Penambahan Elisitor Kitosan Terhadap Kadar Andrografolid Pada Kalus Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Burm.F. Ness)"**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing Nur Asni Setiani, M.Si dan apt. Khairunnisa Sy, M.S.Farm atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dr. apt. Diki Prayugo, M.Si., selaku Wakil Ketua I Bidang Akademik,
3. Dr. apt. Hesti Riasari, M.Si., selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi,
4. Apt. Anggi Restiasari, SSI, MH. Kes, M.S.Farm., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, asisten laboratorium, staf administrasi, serta jajaran karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, terima kasih atas ilmu, pengalaman dan bantuan yang telah diberikan selama perkuliahan,
6. Kepada teman-teman STFI RP 21 yang sama-sama berjuang menyelesaikan studi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki ruang untuk pengembangan lebih lanjut, baik dari segi metode, cakupan analisis, maupun kedalaman pembahasan. Oleh karena itu, dengan penuh kerendahan hati, saya terbuka terhadap segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun demi penyempurnaan karya ini ke depannya. Saya berharap, segala upaya dan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi dunia akademik maupun masyarakat luas, ini semua berkat rahmat Allah yang maha kuasa.

Bandung, Juli 2025

M Bayu Meyimas Tionory
A 211 022

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Kegunaan Penelitian	2
1.5 Waktu dan tempat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	3
2.1.1 Sejarah Tumbuhan	3
2.1.2 Klasifikasi Tanaman	3
2.1.3 Morfologi Tanaman	4
2.1.4 Khasiat	4
2.2 Kandungan Senyawa Kimia Sambiloto	4
2.3 Andrografolid	5
2.4 Kultur Jaringan	6
2.5 Zat Pengatur Tumbuh	6
2.6 Kalus	7
2.7 Teknik Elisitasi	7
2.8 Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)	8
BAB III METODE PENELITIAN	10
3.1 Alat	10
3.2 Bahan	10

3.3	Metode Penelitian.....	10
3.3.1	Pembuatan media <i>Murashige and Skoog</i> (MS) dan pembuatan larutan stok 2,4-D dan kinetin dan kitosan	10
3.3.2	Sterilisasi Alat dan Media.....	11
3.3.3	Sterilisasi Eksplan dan Inisiasi Kalus Daun sambiloto	11
3.3.4	Panen kalus daun sambiloto.....	11
3.3.5	Ekstraksi Kalus Daun Sambiloto	12
3.3.6	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	12
3.3.7	Penambahan Elisitor Kitosan	13
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	14
4.1	Zat pengatur tumbuh 2,4-D dan Kinetin.....	14
4.2	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	17
BAB V	SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	21
5.1	Simpulan.....	21
5.2	Alur Penelitian Selanjutnya.....	21
DAFTAR PUSTAKA		22
LAMPIRAN		24

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 3.1 Konsentrasi zat pengatur tumbuh.....	11
Tabel 4.1 Persentase tumbuh, warna, bentuk kalus daun sambiloto	15

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Daun Sambiloto (Kanal Pengetahuan Farmasi universitas Gadjha Mada, 2018).	3
Gambar 2.2 Jalur Biosintesis Andrografolid (Sharma et al., 2014).	5
Gambar 4.1 Kalus daun sambiloto zpt 2,4-D dan kinetin: (a) 2,5: 1,5 mg/L, (b) 2 :1mg/L dan (c) 1,5: 0,5 mg/L.....	16
Gambar 4.2 Kadar andrografolid 2,4-D dan kinetin	18
Gambar 4.3 kadar andrografolid dengan elisitor kitosan pada hari ke 7 dan 9.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1 Hasil Kalus Daun Sambiloto	25
Lampiran 2 Hasil Analisis KCKT 2,4-D dan Kinetin.....	27
Lampiran 3 Hasil Analisis KCKT Elisitor.....	28
Lampiran 4 Kurva Hasil Analisis 2,4-D dan Kinetin.....	29
Lampiran 5 Kurva Hasil Analisis Elisitor.....	32

DAFTAR PUSTAKA

- Abd Aziz, N.A. *et al.* (2021) ‘A review on extraction techniques and therapeutic value of polar bioactives from Asian medicinal herbs: Case study on *Orthosiphon aristatus*, *Eurycoma longifolia* and *Andrographis paniculata*’, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(2), pp. 143–165.
- Ali, A. *et al.* (2019) ‘Silver nanoparticles elicited *in vitro* callus cultures for accumulation of biomass and secondary metabolites in *Caralluma tuberculata*’, *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), pp. 715–724.
- Alkhateeb, F.L. *et al.* (2021) ‘Ultra high-performance liquid chromatography method development for separation of formoterol, budesonide, and related substances using an analytical quality by design approach’, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 193, p. 113729.
- Basharat, R. *et al.* (2021) ‘A Mini-review on Ultra Performance Liquid Chromatography’, *Oriental Journal Of Chemistry*, 37(4), pp. 847–857.
- Bashri, G. *et al.* (2018) ‘Kinetin Regulates UV-B-Induced Damage to Growth, Photosystem II Photochemistry, and Nitrogen Metabolism in Tomato Seedlings’, *Journal of Plant Growth Regulation*, 37(1), pp. 233–245.
- Bhati, C. *et al.* (2022) ‘High Performance Liquid Chromatography: Recent Patents and Advancement’, *Biomedical and Pharmacology Journal*, 15(2), pp. 729–746.
- Boswell, P.G., Abate-Pella, D. and Hewitt, J.T. (2015) ‘Calculation of retention time tolerance windows with absolute confidence from shared liquid chromatographic retention data’, *Journal of Chromatography A*, 1412, pp. 52–58.
- Botana, L.M. *et al.* (2017) ‘Derivation of toxicity equivalency factors for marine biotoxins associated with Bivalve Molluscs’, *Trends in Food Science & Technology*, Botana, Luis M., Philip Hess, Rex Munday, et al. “Derivation of Toxicity Equivalency Factors for Marine Biotoxins Associated with Bivalve Molluscs.” *Trends in Food Science&Technology* 59 (January 2017): 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.015>., pp. 15–24.
- Chen, X. and Wang, L. (2021) ‘Analysis of the Application of High Performance Liquid Chromatography’, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 769(3), p. 032020.
- Dai, Y. *et al.* (2019) ‘Overview of pharmacological activities of *Andrographis paniculata* and its major compound andrographolide’, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(sup1), pp. S17–S29.
- Deem, M.C. and Hein, J.E. (2023) ‘A Method for Converting HPLC Peak Area from Online Reaction Monitoring to Concentration Using Nonlinear Regression’, *The Journal of Organic Chemistry*, 88(2), pp. 1292–1297.

- Elbouzidi, A. *et al.* (2024) 'Enhancing Secondary Metabolite Production in *Pelargonium graveolens* Hort. Cell Cultures: Eliciting Effects of Chitosan and Jasmonic Acid on Bioactive Compound Production', *Horticulturae*, 10(5), p. 521.
- Fatana, D., Suharli, L. and Sandra, E. (no date) 'Pembuatan Media MS (Murashigae and Skoog) dengan Tambahan Konsentrasi Zpt secara In Vitro'.
- Habibah, N.A. *et al.* (2024) 'Effects of Low-Dose Kinetin, 2,4-D and Monochromatic Light Conditions on Flavonoid Content in Callus Culture of *Dioscorea esculenta*', *Trends in Sciences*, 21(2), p. 7218.
- Handoyo, G.C. *et al.* (2024) 'Pemanfaatan Elisitor Sebagai Senyawa Pemicu Respon Pertahanan Tanamandi Desa Glagahwangi, Kecamatan Polanharjo, Kabupaten Klaten', 4(1).
- Indrayani, S., Megantara, S. and Saputri, F.A. (2020) 'REVIEW: SINTESIS TURUNAN ANDROGRAFOLID PADA GUGUS HIDROKSIL C-3 DAN C-19', *Jurnal Pharmascience*, 7(2), p. 1.
- Khan, T., Abbasi, B.H. and Khan, M.A. (2018) 'The interplay between light, plant growth regulators and elicitors on growth and secondary metabolism in cell cultures of *Fagonia indica*', *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 185, pp. 153–160.
- Mwaniki, W.I. *et al.* (2019) 'Effects of genotype and plant growth regulators on callus induction in leaf cultures of *Coffea arabica* L. F1 hybrid', *African Journal of Biotechnology*, 18(31), pp. 1004–1015.
- Nair, D.S. and Manjula, S. (2020) 'Induction of root endosymbiosis as a highly sustainable and efficient strategy for overproduction of the medicinally important diterpenoid lactone-andrographolide in *Andrographis paniculata* (Burm. F.) Wall. ex Nees', *Industrial Crops and Products*, 156, p. 112835.
- 'Netty-Ino-Ischak-Buku-Sambiloto-Ceplukan-Daun-Salam-Antidiabetes (1)' (no date).
- Ng, T.L.M. *et al.* (2016) 'Amino Acid and Secondary Metabolite Production in Embryogenic and Non-Embryogenic Callus of Fingerroot Ginger (*Boesenbergia rotunda*)', *PLOS ONE*. Edited by M.K.R. Mudiam, 11(6), p. e0156714.
- Nurcahyani, E., Zulkifli, Z. and Kanedi, M. (2021) 'Pengenalan dan Pelatihan Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan Bagi Guru Biologi SMA Se-Kabupaten Tanggamus Provinsi Lampung', *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat (JPKM) TABIKPUN*, 2(1), pp. 39–46.
- Nurfadhila, S.C., Sari, Y.P. and Astuti, P. (no date) 'Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Kalus, Senyawa Metabolit Sekunder Dan Aktivitas'.
- Rayudu, S. (2023) 'An Exploration Of High-Performance Liquid Chromatography', *International Journal Of Scientific Research*, pp. 71–72.

- Retnaningati, D. *et al.* (2021) 'Pertumbuhan Kalus dan Produksi Katekin pada Kultur In Vitro Kalus Teh (*Camelia Sinensis* L.) dengan Penambahan Elisitor Ca^{2+} dan Cu^{2+} ', *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, pp. 192–202.
- Royani, J.I., Hardianto, D. and Wahyuni, S. (2014) 'Analisa Kandungan Andrographolide Pada Tanaman Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Dari 12 Lokasi Di Pulau Jawa', *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 1(1), p. 15.
- Saleem, Y. *et al.* (2022) 'Synergetic Effect of Different Plant Growth Regulators on Micropropagation of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) by Callogenesis', *Agriculture*, 12(11), p. 1812.
- Santoso, S.B. (2021) 'High-performance liquid chromatography for analytical chemistry', *Innovation in Health for Society*, 1(2), pp. 33–34.
- Sharma, S.N. *et al.* (2015) 'Jasmonate-induced biosynthesis of andrographolide in *Andrographis paniculata*', *Physiologia Plantarum*, 153(2), pp. 221–229.
- Silvina, F., Isnaini, I. and Ningsih, W. (2022) 'Induksi kalus daun binahong merah (*Basella rubra* L.) dengan pe,berian 2,4-D dan kinetin', *Jurnal AGRO*, 8(2), pp. 274–286.
- sulistyowati. (2023) 'Pengaruh Ekstrak Sambiloto Terhadap Kadar Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase (Sgot)', pp 16-17.
- Syukri, Y. *et al.* (2018) 'Quantification of Andrographolide Isolated from *Andrographis paniculata* Nees Obtained from Traditional Market in Yogyakarta Using Validated HPLC', *Indonesian Journal of Chemistry*, 16(2), p. 190.
- Waryastuti, D.E. (2017) 'Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)', 5.
- Wijaya, R., Restiani, R. and Aditiyarini, D. (2020a) 'Pengaruh Kitosan terhadap Produksi Saponin Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)'.
- Wijaya, R., Restiani, R. and Aditiyarini, D. (2020b) 'Pengaruh Kitosan terhadap Produksi Saponin Kultur Kalus Daun Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.)'.
- Wong, S.K., Chin, K.-Y. and Ima-Nirwana, S. (2021) 'A review on the molecular basis underlying the protective effects of *Andrographis paniculata* and andrographolide against myocardial injury', *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 15, pp. 4615–4632.