

**PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH NAA DAN BAP
TERHADAP KADAR ANDROGRAFOLID BERDASARKAN
WAKTU PANEN PADA KULTUR KALUS SAMBILOTO
(*Androghapis paniculata* (Burm. f.) Ness)**

SKRIPSI

**MUHAMAD AD MUARIF
A 211 062**



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

**PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH NAA DAN BAP
TERHADAP KADAR ANDROGRAFOLID BERDASARKAN
WAKTU PANEN PADA KULTUR KALUS SAMBILOTO
(*Androghapis paniculata* (Burm. f.) Ness)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**MUHAMAD AD MUARIF
A 211 062**



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

**PENGARUH ZAT PENGATUR TUMBUH NAA DAN BAP
TERHADAP KADAR ANDROGRAFOLID BERDASARKAN
WAKTU PANEN PADA KULTUR KALUS SAMBILOTO
(*Androghapis paniculata* (Burm. f.) Ness)**

**MUHAMAD AD MUARIF
A 211 062**

Juli 2025

Disetujui oleh :

Pembimbing

Pembimbing



Himalaya Wana Kelana, M.Pd.



apt Khairunnisa SY., M.S.Farm

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

PERSEMBAHAN

Dengan ucapan Alhamdulillah, skripsi ini dipersembahkan untuk keluargaku tercinta, yang menjadi rumah dalam setiap doa. Dosen pembimbingku, yang dengan sabar membimbing langkahku sampai sejauh ini. Teman-teman seperjuangan, yang hadir di tengah lelah, dan membuat perjalanan ini tak sepenuhnya sunyi. Serta untuk diriku sendiri, yang tetap berjalan, meski pernah ingin berhenti.

ABSTRAK

Andrografolid merupakan senyawa aktif utama dalam tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang memiliki berbagai aktivitas farmakologis, termasuk sebagai antiinflamasi, antibakteri, dan imunostimulan. Upaya peningkatan produksi andrografolid dapat dilakukan melalui teknik kultur jaringan tanaman, khususnya kultur kalus dengan penambahan zat pengatur tumbuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) *Napthaleneacetic Acid* (NAA) dan *Benzil Amino Purin* (BAP) terhadap kadar andrografolid pada kultur kalus tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*), dengan memperhatikan waktu panen yang optimal pada minggu ke-2. Eksplan daun sambiloto dikulturkan dalam media MS dengan kombinasi konsentrasi NAA dan BAP (1:1, 2:1, 1:2) serta Media MS sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan kalus, warna, tekstur, bobot basah dan kering, serta kadar andrografolid menggunakan metode KCKT. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi 2mg/L NAA : 1mg/L BAP memberikan hasil optimal dalam pembentukan kalus yang cepat, tekstur padat, bobot tinggi, dan kadar andrografolid tertinggi 89.34% Waktu panen terbaik diperoleh pada minggu ke-2 atau 30 Hari Setelah Tanam (HST), di mana kadar andrografolid mencapai puncaknya sebelum mengalami penurunan akibat penuaan kultur. Penelitian ini memberikan kontribusi terhadap optimasi produksi metabolit sekunder melalui teknik kultur jaringan.

.

Kata Kunci : Sambiloto, kultur kalus, NAA, BAP, andrografolid, waktu panen

ABSTRACT

*Andrographolide is the main active compound in *Andrographis paniculata* (sambiloto) with various pharmacological activities, including anti-inflammatory, antibacterial, and immunostimulant effects. Efforts to increase andrographolide production can be carried out through plant tissue culture techniques, particularly callus culture with the addition of plant growth regulators (PGRs). This study aimed to evaluate the effect of a combination of the PGRs Naphthaleneacetic Acid (NAA) and Benzyl Amino Purine (BAP) on andrographolide content in *A. paniculata* callus culture, with attention to the optimal harvest time at the 2nd week. Sambiloto leaf explants were cultured on MS medium with NAA and BAP concentration combinations (1:1, 2:1, 1:2) and MS medium as the control. Observations were made on callus growth, color, texture, fresh and dry weight, and andrographolide content using the HPLC method. The results showed that the combination of 2 mg/L NAA : 1 mg/L BAP yielded optimal results in rapid callus formation, firm texture, high biomass, and the highest andrographolide content of 89.34%. The best harvest time was at the 2nd week or 30 Days After Planting (DAP), when andrographolide content peaked before declining due to culture aging. This study contributes to the optimization of secondary metabolite production through tissue culture techniques..*

Keywords: *Andrographis paniculata*, callus culture, NAA, BAP, andrographolide, harvest time

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **"Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh NAA dan BAP terhadap Kadar Andrografolid berdasarkan Waktu Panen pada Kultur Kalus Sambiloto"** dibawah bimbingan Himalaya Wana Kelana, M.Pd dan apt. Khairunnisa SY, M.S.Farm. Sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Saya menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak akan terwujud tanpa dukungan, bimbingan dan arahan yang berharga dari berbagai pihak selama proses penyusunan. Pada kesempatan ini, tidak lupa saya mengucapkan terimakasih 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. Dr. apt. Dewi Astriany, M.Si., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
5. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
6. Orang tua yang telah memberikan semangat, dukungan, dan doa yang tiada henti kepada penulis,
7. Rekan – rekan Penelitian Kultur Jaringan yang telah berjuang bersama dalam Penelitian.
8. Serta teman-teman angkatan 2021, yang telah memberikan semangat, kehangatan, dan kegembiraan selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, 25 Juli 2025

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	3
1.5 Tempat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Ness)	4
2.2 Kandungan senyawa sambiloto	5
2.3 Andrografolid.....	5
2.4 <i>Kultur Jaringan</i>	6
2.5 Naphtaleneacetic Acid (NAA)	6
2.5 Benzyl Amino Purine (BAP)	7
2.6 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	7
BAB III TATA KERJA	8
3.1 Alat.....	8
3.2 Bahan.....	8
3.4 Metode Penelitian.....	8
3.4.1 Sterilisasi Alat Bahan.....	8
3.4.2 Sterilisasi Eksplan Daun Sambiloto	9
3.4.3 Induksi Kalus Pada Media.....	9
3.4.4 Ekstraksi Kalus.....	9

3.4.5	Analisa kadar Andrografolid	9
3.5	Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data	9
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	11
4.1	Pengaruh Kombinasi NAA dan BAP terhadap Pembentukan Kalus Sambiloto	11
4.1.1	Pertumbuhan Eksplan Kalus Sambiloto.	11
4.1.2	Warna kalus.....	15
4.1.3	Tekstur Kalus	16
4.1.4	Bobot Kalus.....	18
4.1.5	Kontaminasi	20
4.2	Kadar Andrografolid Optimal berdasarkan Waktu Panen	22
4.2.1	Analisis Larutan Standar Andrografolid	23
4.2.2	Hasil Analisis Kadar Andrografolid per Minggu	24
4.2.3	Interpretasi Waktu Panen Optimal	25
4.2.4	Hasil uji data statistik	27
BAB V	KESIMPULAN DAN PENELITIAN SELANJUTNYA	29
5.1	Kesimpulan	29
5.2	Alur Penelitian Selanjutnya	29
	DAFTAR PUSTAKA	30
	LAMPIRAN	34

DAFTAR TABEL

Lampiran	Halaman
4.1 Tabel Hari Tumbuh Kalus.....	12
4.2 Tabel Warna Kalus.....	15
4.3 Tabel Tekstur Kalus	16
4.4 Tabel Bobot Kalus.....	18
4.5 Tabel Kontaminasi Jamur	20
4.6 Tabel Kontaminasi Bakteri	20
4.7 Tabel Standar Andrografolid	23
4.8 Tabel Analisis Kadar Perminggu	24
4.9 Tabel Uji Normalitas	26
4.10 Tabel rank test Kruskal-wallis	26

DAFTAR GAMBAR

Lampiran	Halaman
2.1 Gambar Tanaman Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>).....	4
2.2 Gambar Struktur Andrografolid.....	6
4.1 Gambar Jumlah Pertumbuhan Kalus.....	11
4.2 Gambar Jalur Metabolit Sekunder	14
4.3 Gambar Warna Kalus.....	15
4.4 Gambar Jumlah Kontaminasi batch 1	21
4.5 Gambar Jumlah Kontaminasi batch 2	21
4.6 Gambar Jumlah Kontaminasi semua batch.....	21
4.7 Gambar Kurva Standar Andrografolid.....	23
4.8 Gambar Waktu Panen optimal	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Lampiran Hasil Determinasi Andrografolid	34
2 Lampiran Hasil Spektrum Standar Andrografolid	35
3 Lampiran Hasil Spektrum Sampel Minggu 1	37
4 Lampiran Hasil Spektrum Sampel Minggu 2	39
5 Lampiran Hasil Spektrum Sampel Minggu 3	41
6 Lampiran Hasil Spektrum Sampel Minggu 4	43
7 Lampiran Perhitungan Pembuatan Media	45
8 Lampiran Perhitungan Pembuatan Larutan.....	46
9 Lampiran Perhitungan Konsentrasi Sampel	47
10 Lampiran Perhitungan Kadar Sampel	49
11 Lampiran Data Pertumbuhan Kalus	51
12 Lampiran Dokumentasi Kalus.....	53
13 Lampiran Data Statistik	54
14 Lampiran Alat dan Bahan	55

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, N. & Praveen, N. (2023) 'Effect of salicylic acid, jasmonic acid, and a combination of both on andrographolide production in cell suspension cultures of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees', *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 11(2), pp. 198–203.
- Angraini, *et al.* (2020) 'Optimasi Penggunaan High Performance Liquid Chromatography (KCKT) Untuk Analisis Asam Askorbat Guna Menunjang Kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan', *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), pp. 69.
- Aqidatud, N., 2019. 'Pengaruh variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh terhadap pembentukan dan karakteristik kalus tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) secara in vitro', *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), pp.115–122.
- Bindu, B.B.V., Mote, S., Shailaja, A. & Giri, C.C. (2020) 'Isolation, characterization and in silico analysis of 3 Hydroxy 3 methylglutaryl coenzyme A reductase (HMGR) gene from *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees', *Molecular Biology Reports*, 47(1), pp. 639–654.
- Djarot, A. & Gati, E., 2024. Potensi senyawa aktif sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai agen terapi herbal modern. *Jurnal Penelitian Tanaman Obat Indonesia*, 12(2), pp.101–110.
- Fatmawati, D., 2019. Kandungan kimia dan aktivitas farmakologis sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Farmasi dan Fitofarmaka Indonesia*, 6(2), pp.77–85.
- Febriana, A., Santoso, B. & Wulandari, D., 2020. Potensi ekstrak sambiloto dalam terapi herbal modern. *Jurnal Penelitian Tanaman Obat Indonesia*, 8(2), pp.85–92.
- Fonseka, D.L.C.K. & Ranaweera, D. (2020) 'Callus Production Protocol for *Andrographis paniculata*: A Valuable Medicinal Plant', *International Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 4(4), pp. 41–46.
- Guntoro, B., 2011. Kultur jaringan tanaman sebagai metode perbanyakan dan produksi metabolit sekunder. *Jurnal Agroteknologi Indonesia*, 3(1), pp.12–19.
- Indu, B.K.; Balasubramanya, S.; Anuradha, M.; Shilpa, P. (2025). *Callus and Cell Suspension Cultures for Secondary Metabolite Production*. Dalam: *In Vitro Production of Plant Secondary Metabolites*. Springer, pp. 71–88.
- Jindal, N., Kajla, S. & Chaudhury, A. (2016) 'Establishment of callus cultures of

Andrographis paniculata for the assessment of andrographolide content', *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 7(2), pp. 197–201.

Juwartina, I.R., Hardianto, D. & Wahyuni, S., 2014. Analisa kandungan andrografolide pada tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dari 12 lokasi di Pulau Jawa. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 1(1), pp.7–14.

Krestiani, E., 2013a. Pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh terhadap pembentukan kalus sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, 2(1), pp.15–21.

Krestiani, E., 2013b. Analisis kadar andrografolid pada kultur in vitro sambiloto dengan variasi media. *Jurnal Penelitian Tanaman Obat Indonesia*, 4(2), pp.45–52.

Kristianto, A.D. & Setyorini, T. (2021a) 'Induksi Kalus Eksplan Daun Lada (*Piper nigrum* L.) pada Modifikasi Media MS dengan Penambahan Hormon NAA dan BAP', *Agritech: Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto*, 23(2), pp. 160–166.

Kristianto, A.D. and Setyorini, T., (2021b). Induksi Kalus Eksplan Daun Lada (*Piper nigrum* L.) pada Modifikasi Media MS dengan Penambahan Hormon NAA dan BAP. *AGRITECH*, 23(2), pp. ISSN: 1411-1063. Institut Pertanian Stiper, Yogyakarta.

Kurnijasanti, R., Handayani, L. & Prasetyo, A., 2020. Evaluasi stabilitas waktu retensi pada analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT/HPLC) terhadap senyawa metabolit sekunder tanaman obat. *Jurnal Analisis Farmasi Indonesia*, 5(2), pp.67–74.

Mardhati, F.I., 2015. Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada tikus putih. *Jurnal Farmasi dan Fitofarmaka Indonesia*, 2(3), pp.112–118.

Maufiroh, A.U. (2019) 'Induksi Kalus Dari Eksplan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Dengan Pemberian Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh Napthalene Acetic Acid (NAA) dan 6-Benzyl Amino Purine (BAP)', Surabaya.

Meynarti, E., Suryani, T. & Pratama, R., 2017. Aktivitas farmakologis andrografolid dari sambiloto (*Andrographis paniculata*) sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), pp.25–33.

Millenia, F.K., Sumadi, S., Suminar, E., Nuraini, A. & Pitaloka, G.G. (2022) 'Induksi Kalus Eksplan Daun Stroberi (*Fragaria* × *ananassa Duch*) dengan Pemberian NAA dan CaP Secara In Vitro', *Jurnal Galung Tropika*, 11(3), pp. 317–329.

- Murtalaksono, A., Mardhiana, M. & Saputri, L.L. (2022) 'Pengaruh berbagai macam pupuk organik terhadap produksi tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*)', *Agroporss: National Conference Proceedings of Agriculture*, pp. 132–139.
- Nurhidayah, S., Rahmawati, T. & Yuliani, A., 2017. Uji aktivitas antioksidan ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) dengan metode DPPH. *Jurnal Penelitian Sains*, 19(1), pp.55–61.
- Pan, X., Li, Y., Zhang, Q. & Chen, H., 2020. Growth deceleration accompanied by enhanced secondary metabolite biosynthesis in plant cell cultures: physiological and biochemical perspectives. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 141(2), pp.215–227.
- Pawar, S.D., Yeole, P.T., Bhadane, P.V. & Kadam, S.R. (2018) 'Standardization of callus induction protocol and effect of hormone concentration on synthesis of andrographolide from *Andrographis paniculata*', *International Journal of Chemical Studies*, 6(2), pp. 1384–1387.
- Premjet, D., Kongbungkerd, A. & Premjet, S. (2024) 'Andrographolide production in in vitro cultures of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees', *Asia Pacific Journal of Science and Technology*, 29(05).
- Putri, H.A., Handini, A.S., Madusari, S. & Sitohang, J.P. (2023) 'Penghambatan pencoklatan (browning) pada kultur in vitro kelapa sawit menggunakan beberapa antioksidan', *Jurnal Ilmiah Inovasi*, 23(3), pp. 265–271.
- Rahayu, R.S., Ramadhani, I., Masrukhin, Riastiwi, I., Prawestri, A.D. & Yuliani, Y. (2021) 'Confirmation of endophytic microbes causing contamination in water spinach (*Ipomoea aquatica* Forssk.) tissue culture', *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 7(2), pp. 234–249.
- Raina, A.P. & Gupta, V., 2015. Morphological and pharmacognostic characteristics of *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 4(1), pp.78–82.
- Rais, I.R. (2015) 'Isolasi dan penentuan kadar flavonoid ekstrak etanolik herba sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees)', *Pharmaciana*, 5(1), pp. 101–106.
- Rusmin, D., Melati, S.M., Wahyun, W. & Sukarman, S. (2020) 'Pengaruh umur panen terhadap viabilitas benih serta hubungannya dengan produksi terna sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees)', *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 25(1), pp. 21–27.
- Senoaji, G., 2016. Pemanfaatan tanaman obat tradisional di Indonesia: Studi kasus sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Jurnal Kehutanan dan Lingkungan*,

8(2), pp.145–152.

Sharma, M., Sharma, A., Kumar, A. & Basu, S.K. (2011) 'Enhancement of Secondary Metabolites in Cultured Plant Cells Through Stress Stimulus', *American Journal of Plant Physiology*, 6(2), pp. 50–71.

Sharma, S.N. & Jha, Z. (2012) 'Production of andrographolide from callus and cell suspension culture of *Andrographis paniculata*', *Journal of Cell and Tissue Research*, 12(3), pp. 3423–3429.

Suhartono, S., Sholehah, D.N. & Murianto, R.S. (2020) 'Respon pertumbuhan dan produksi andrografolida tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) akibat perbedaan dosis pupuk guano', *Rekayasa: Journal of Science and Technology*, 13(2), pp. 164–171.

Wahyuni, A., Satria, B. & Zainal, A. (2020) 'Induksi kalus gaharu dengan NAA dan BAP secara in vitro', *Agrosains: Jurnal Penelitian Agronomi*, 22(1), pp. 39–44.

Warditiani, N.K., Puspawati, N.M. & Aryanta, W.R., 2019. Profil fitokimia sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan potensi farmakologisnya. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(2), pp.89–96.

Wijaya, R., Restiani, M. & Aditjarini, D., 2020. Optimasi kultur jaringan sambiloto untuk produksi andrografolid. *Jurnal Bioteknologi Indonesia*, 15(1), pp.21–28.

Wulandari, S., Sholihatun Nisa, Y., Taryono, Indarti, S. & Sayekti, R.R.S. (2021) 'Sterilisasi peralatan dan media kultur jaringan', *Agrinova: Journal of Agrotechnology Innovation*, 4(2), pp. 16–19.

Yunita, E., 2021. Mekanisme kerja andrografolida dari sambiloto sebagai senyawa antioksidan. *Herb-Medicine Journal*, 4(1), pp.43–56.