

PURIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN GANDARUSA (*Justicia gendarussa* Burm. f.) YANG DIFERMENTASI *Aspergillus oryzae* DENGAN KOLOM KROMATOGRAFI

SALMA AINUNNISA



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Purifikasi Senyawa Antioksidan Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) yang Difermentasi *Aspergillus oryzae* dengan Kolom Kromatografi” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2024

Salma Ainunnisa
G8401201071

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

SALMA AINUNNISA. Purifikasi Senyawa Antioksidan Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) yang Difermentasi *Aspergillus oryzae* dengan Kolom Kromatografi. Dibimbing oleh SYAEFUDIN dan WARAS NURCHOLIS.

Radikal bebas adalah penyebab berbagai penyakit berbahaya. Pencegahan untuk menghilangkan senyawa yang radikal tersebut adalah dengan antioksidan. Senyawa antioksidan dapat didapat dari tanaman, contohnya gandarusa (*Justicia gendarussa*). Metode fermentasi menggunakan jamur *Aspergillus oryzae* dan dilakukannya purifikasi menggunakan kolom kromatografi dapat meningkatkan senyawa antioksidan pada gandarusa. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan aktivitas antioksidan dari hasil fermentasi gandarusa yang sudah dipurifikasi. Gandarusa difermentasi dengan *A. oryzae* dan diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol masing-masing selama 1 x 24 jam. Optimasi pelarut menggunakan KLT dilakukan untuk menemukan pelarut untuk kromatografi kolom. Setelah itu, ekstrak dipurifikasi dengan kolom kromatografi. Ekstrak yang didapat tersebut diuji bioautografi DPPH dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Hasil bioautografi DPPH menunjukkan bahwa ada senyawa antioksidan di dalam fraksi dan hasil pengujian DPPH menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang lebih tinggi signifikan dari ekstrak yang tidak dipurifikasi ($IC_{50}=840,05 \mu\text{g/mL}$) dimiliki Fraksi 8 ($IC_{50}=647,66 \mu\text{g/mL}$). Oleh karena itu, purifikasi dengan metode kolom kromatografi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, fermentasi, gandarusa, kromatografi kolom

ABSTRACT

SALMA AINUNNISA. Purification of Antioxidant Compounds from Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) Fermented with *Aspergillus oryzae* using Column Chromatography. Supervised by SYAEFUDIN and WARAS NURCHOLIS.

Free radicals are a major cause of various dangerous diseases. Prevention of these radical compounds can be obtained by antioxidants, which can be used from plants like gandarusa (*Justicia gendarussa*). Fermentation with the *Aspergillus oryzae* and purification using column chromatography can increase gandarusa's antioxidant compounds. The purpose of this study was to obtain antioxidant activity from fermented and purified gandarusa. This study involved fermenting gandarusa with *A. oryzae* and extracting it using successive maceration method with *n*-hexane, ethyl acetate, and methanol, each for 24 hours. Solvent optimization using TLC was performed to find the right solvent to performing column chromatography. The extract was then fractionated using column chromatography. The obtained extract was tested with DPPH bioautography and the DPPH antioxidant assay method. The results indicated that fractions obtained, Fraction 8 ($IC_{50}=647,66 \mu\text{g/mL}$), through column chromatography showed significantly higher antioxidant activity compared to unpurified extracts ($IC_{50}=840,05 \mu\text{g/mL}$).

Keywords: antioxidant activity, column chromatography, fermentation, gandarusa



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB

**PURIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN GANDARUSA
(*Justicia gendarussa* Burm. f.) YANG DIFERMENTASI
Aspergillus oryzae DENGAN KOLOM KROMATOGRAFI**

SALMA AINUNNISA

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biokimia

**BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

1. Dr. Inda Setyawati, S.TP., M.Si.

2. Ukhradiya Magharaniq Safira P., S.Si., M.Si.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Skripsi : Purifikasi Senyawa Antioksidan Gandarusa (*Justicia gendarussa* *Burm. f.*) yang Difermentasi *Aspergillus oryzae* dengan Kolom Kromatografi

Nama : Salma Ainunnisa
NIM : G8401201071

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Syaeudin, S.Si., M.Si., Ph.D.

Pembimbing 2:
Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Departemen Biokimia:
 Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP 19770915 200501 2 002



Tanggal Ujian:
5 Agustus 2024

Tanggal Lulus:



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Judul yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Oktober 2023 sampai bulan Juli 2024 ini ialah “Purifikasi Senyawa Antioksidan Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) yang Difermentasi *Aspergillus oryzae* dengan Kolom Kromatografi”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Syaefudin, S.Si., M.Si., Ph.D. dan Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si., yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan Biokimia IPB beserta staf Laboratorium Penelitian yang telah membantu selama pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada orang tua penulis Bapak Bambang Ryadi Praptono dan Ibu Nina Dewi Kurnia, serta saudara-saudari penulis, Aa Rizki, Teh Afi, Praba, Reiga, Mas Sani, dan Kakak Nadyah yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Annisa, Diva, dan Restu, yang telah menemani dan membantu dalam penelitian penulis. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Kak Mahes, Kak Syahrul, Kamilah, Lelly, Keshia, Firya, Aldila, Farah, Amira, Sekar, Candrika, Fiqoh, Helga, Ayesya, Naura dan teman-teman KKN Desa Pajambon, serta teman-teman Biokimia 57 yang sudah memberi dukungan hangat dan saran penelitian untuk penulis.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2024

Salma Ainunnisa



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Hipotesis	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Radikal Bebas	3
2.2 Gandarusa	3
2.3 <i>Aspergillus oryzae</i>	4
2.4 Fermentasi Metode <i>Solid-state Fermentation</i> (SSF)	5
2.5 Kromatografi	5
2.6 Antioksidan	6
III METODE	8
3.1 Waktu dan Tempat	8
3.2 Alat dan Bahan	8
3.3 Prosedur Kerja	8
3.4 Analisis Data	12
IV HASIL	13
4.1 Kadar Air Gandarusa	13
4.2 Hasil Fermentasi Gandarusa	13
4.3 Hasil Maserasi Ekstrak Metanol Gandarusa	13
4.4 Hasil KLT Ekstrak Metanol dengan Beberapa Pelarut	14
4.5 Kromatogram Ekstrak Metanol Gandarusa Fermentasi	15
4.6 Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	15
V PEMBAHASAN	18
5.1 Kadar Air Gandarusa	18
5.2 Gandarusa Fermentasi Menggunakan <i>Aspergillus oryzae</i>	18
5.3 Rendemen Ekstrak Metanol Gandarusa yang Difermentasi <i>Aspergillus oryzae</i>	19
5.4 Fraksi Ekstrak Metanol Gandarusa Hasil Kromatografi Kolom	20
5.5 Aktivitas Antioksidan DPPH Hasil Purifikasi	21
VI SIMPULAN DAN SARAN	23
6.1 Simpulan	23
6.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	29
RIWAYAT HIDUP	37

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR GAMBAR

1	Gandarusa (<i>Justicia gendarussa</i> Burm. F.) Sumber: <i>Justicia gendarussa</i> Burm.f. Plants of the World Online Kew Science	4
2	Morfologi <i>Aspergillus oryzae</i> : (a) di bawah mikroskop, (b) dikultivasi di <i>potato dextrose agar</i> (Daba <i>et al.</i> 2021)	5
3	Reaksi DPPH dalam menghambat radikal bebas (Prakash 2001)	7
4	Hasil inokulasi <i>A. oryzae</i> dan fermentasi gandarusa; a) Hasil inokulum, b) hasil inokulum <i>A. oryzae</i> yang sudah dipreservasi pada larutan gliserol 20%, dan c) hasil fermentasi gandarusa	13
5	Kromatogram Plat KLT ekstrak metanol yang memakai fase gerak etil asetat: <i>n</i> -heksana yang bervariasi dengan (a) visualisasi sinar 366 nm dan (b) visualisasi sinar UV 254 nm.	14
6	Bioautografi Fraksi 1—Fraksi 9, serta <i>crude</i> dan Trolox. (a) visualisasi sinar 366 nm, (b) visualisasi sinar 254 nm, dan (c) pewarnaan plat memakai DPPH	16
7	Hasil skrining DPPH setiap hasil fraksi kolom kromatografi	17
8	Hasil uji IC ₅₀ DPPH pada setiap hasil fraksi kolom kromatografi yang lolos uji skrining	17

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan Alir Penelitian	30
2	Kombinasi pelarut yang digunakan pada KLT	Error! Bookmark not defined.
3	Jumlah pelarut yang digunakan pada kromatografi kolom	32
4	Kurva Linier IC ₅₀ Standar Trolox	32
5	Kurva Linier IC ₅₀ Fraksi 3.1	33
6	Kurva Linier IC ₅₀ Fraksi 6	33
7	Kurva linier IC ₅₀ Fraksi 8	34
8	Kurva linier IC ₅₀ <i>crude</i>	35
9	Statistik pada hasil uji IC ₅₀ hasil fraksi gandarusa	36