PEMISAHAN DAN UJI ANTIOKSIDAN ISOLAT STEROID HASIL KLTP EKSTRAK n-HEKSANA DAN PETROLEUM ETER *Hydrilla verticillata* DANAU RANU GRATI

SKRIPSI

Oleh:
LAILI MEI SULISTIYANI
NIM. 14630003

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PEMISAHAN DAN UJI ANTIOKSIDAN ISOLAT STEROID HASIL KLTP EKSTRAK n-HEKSANA DAN PETROLEUM ETER *Hydrilla verticillata* DANAU RANU GRATI

SKRIPSI

Oleh:
LAILI MEI SULISTIYANI
NIM. 14630003

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PEMISAHAN DAN UJI ANTIOKSIDAN ISOLAT STEROID HASIL KLTP EKSTRAK n-HEKSANA DAN PETROLEUM ETER *Hydrilla verticillata* DANAU RANU GRATI

SKRIPSI

Oleh:
LAILI MEI SULISTIYANI
NIM. 14630003

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 11 Desember 2018

Pembimbing I	Pembimbing II
A. Ghanaim Fasya, M.Si	Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19820616 200604 1 002	NIDT. 19860512 20160801 1 060

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PEMISAHAN DAN UJI ANTIOKSIDAN ISOLAT STEROID HASIL KLTP EKSTRAK n-HEKSANA DAN PETROLEUM ETER *Hydrilla verticillata* DANAU RANU GRATI

SKRIPSI

Oleh:
LAILI MEI SULISTIYANI
NIM. 14630003

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 19 Desember 2018

Penguji Utama	**: Akyunul Jannah, S.Si, M.P** **NIP. 19750410 200501 2 009**	(.....)
Ketua Penguji	**: Ahmad Hanapi, M.Sc** **NIDT. 19851225 20160801 1 069**	(.....)
Sekretaris Penguji	**: A. Ghanaim Fasya, M.Si** **NIP. 19820616 200604 1 002**	(.....)
Anggota Penguji	**: Mujahidin Ahmad, M.Sc** **NIDT. 19860512 20160801 1 060**	(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Elok Kamilah Hayati, M. Si
NIP. 19790620 200604 2 002

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Laili Mei Sulistiyani
NIM	: 14630003
Jurusan	: Kimia
Fakultas	: Sains dan Teknologi
Judul Penelitian	: Pemisahan dan Uji Antioksidan Isolat Steroid Hasil KLTP Ektrak n-Heksana dan Petroleum Eter *Hydrilla verticillata* Danau Ranu Grati

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,
Yang membuat pernyataan,

METERAI TEMPEL
97226AFF485146718
6000
ENAM RIBU RUPIAH

Laili Mei Sulistiyani
NIM. 14630003

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT saya akhirnya bisa menyelesaikan skripsi ini. Tanpa kehendak-Nya dan dukungan dari orang-orang sekitar, saya tidak dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Oleh karena itu, saya ingin mempersembahkan tulisan ini untuk:

1. Kedua orang tua saya, Bapak Ahmad Susiadi, S.Pd (Alm) dan Ibu Sulikhati, S.Pd yang telah mendukung saya dan memberikan doa terbaik untuk saya. Terimakasih atas segala yang beliau berikan kepada saya. Semoga Allah senantiasa melimpahkan rahmat dan karunianya.
2. Seluruh anggota keluarga Kartubi yang telah ikut mendoakan atas kesuksesan saya, serta ikut serta membantu saya baik dalam suka maupun duka.
3. Bapak dan Ibu Dosen, terima kasih telah membimbing selama ini. Dari proses pembelajaran selama S-1 ini saya bisa lebih mengerti dan memahami ilmu kimia dengan baik. Kiranya semoga kebaikan Bapak dan Ibu Dosen mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT, Aamiin ...
4. Seluruh teman-teman kimia 2014 terutama teman-teman *Hydrilla verticillata team* yaitu Nur Fitriani Khasanah, Sofia Ning Azah, dan Nico Aditya Yudiawan yang telah menjadi bagian dari penelitian ku. Terima kasih untuk segalanya, semoga Allah memberikan keberkahan atas semua kerja keras yang kita lakukan. Semoga cita-cita kalian semua bisa terwujud dan kita semua sukses, Aamiin ..

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur *Alhamdulilah* penulis haturkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul **"Pemisahan dan Uji Antioksidan Isolat Steroid Hasil KLTP Ekstrak n-heksana dan Petroleum Eter *Hydrilla Verticillata* Danau Ranu Grati"**. Shalawat dan salam selalu penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, sosok teladan personal dalam membangun *role* model peradaban dan budaya pemikiran.

Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu *terselesaikannya*laporan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. A. GhanaimFasya, M.Si., selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan.
5. Ahmad Hanapi, M.Sc., selaku konsultan yang telah memberikan pengarahan.
6. Mujahidin Ahmad, M.Sc., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

7. Segenap civitas akademika Jurusan Kimia, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
8. Bapak, ibu, dan keluarga yang senantiasa memberikando'a dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan proposal ini baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga dapat memberikan manfaat kepada para pembaca, khususnya bagi penulis. *Amin Ya Rabbal Alamin*.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 30 November 2018

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN ii
HALAMAN PERSETUJUAN iii
LEMBAR ORISINALITAS iv
HALAMAN PERSEMBAHAN v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR GAMBAR x
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR LAMPIRAN xii
ABSTRAK xiii
ABSTRACT xiv
الملخص xv

BAB I PENDAHULUAN
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Rumusan Masalah 4
1.3. Tujuan Penelitian 5
1.4. Batasan Masalah 5
1.5. Manfaat Penelitian 5

BAB II STUDI PUSTAKA
2.1. *Hydrilla verticillata* 6
2.2. Steroid 9
2.3. Isolasi Senyawa Steroid 10
2.3.1. Ekstraksi Senyawa Steroid 11
2.3.2. Uji FitokimiaSenyawa Steroid 12
2.3.3. Pemisahan Senyawa Steroid dengan (KLTP) 13
2.3.4. Uji Antioksidan *Hydrilla verticillata* dengan Metode DPPH 15
2.4. Identifikasi Senyawa Steroid Menggunakan Spektrometer 17
2.4.1. Identifikasi Senyawa SteroidMenggunakan Spektrometer UV-Vis 18
2.4.2. Identifikasi Senyawa SteroidMenggunakan Spektrometer FTIR 20

BAB III METODOLOGI
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian 22
3.2. Alat dan Bahan 22
3.2.1. Alat 22
3.2.2. Bahan 22
3.3. Tahapan Penelitian 23
3.4. Cara Kerja 23
3.4.1.Preparasi Sampel 23
3.4.2. PenentuanKadar Air SecaraThermogravimetri 24
3.4.3.Ekstraksi Senyawa Steroid 24
3.4.4.Uji Fitokimia 25

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4.5. PemisahanSenyawa Steroid dengan KLTA 25
3.4.6. PemisahanSenyawa Steroid dengan KLTP.....26
3.4.7. Uji aktivitas Antioksidan terhadap DPPH 27
3.4.7.1.Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH 27
3.4.7.2.Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel.....27
3.4.8. Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis 28
3.4.9. Identifikasi dengan Spektrofotometer FTIR 28
3.5. Analisis Data.....29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1. Preparasi Sampel.....30
4.2. PenentuanKadar Air SecaraThermogravimetri.....31
4.3. Ekstraksi Senyawa Steroid.....32
4.4. Uji Fitokimia Steroid 35
4.5. Pemisahan Senyawa Steroid dengan KLTA 35
4.6. Pemisahan Senyawa Steroid dengan KLTP.....37
4.7. Uji aktivitas Antioksidan terhadap DPPH 42
4.7.1.Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH 42
4.7.2.Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel.....43
4.8. Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis 47
4.9. Identifikasi dengan Spektrofotometer FTIR 48

BAB V PENUTUP
5.1. Kesimpulan 52
5.2. Saran 52

DAFTAR PUSTAKA.....53
LAMPIRAN.....59

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. *Hydrilla verticillata*.....7
Gambar 2.2. Struktur Senyawa Steroid.....10
Gambar 2.3. Struktur DPPH 16
Gambar 2.4. Reaksi Radikal Bebas DPPH dengan Antioksidan 17
Gambar 2.5. Spektra UV-Vis Isolat Steroid.....19
Gambar 4.1. Pemisahan Senyawa Steroid Hasil KLTA dengan Eluen N-Heksana dan Etil Asetat.....37
Gambar 4.2. Pemisahan Senyawa Steroid Hasil KLTP dibawah Lampu UV 366 nm 40
Gambar 4.3. Panjang Gelombang Maksimum Larutan DPPH 42
Gambar 4.4. Panjang Gelombang Maksimum Isolat Steroid pada Ekstrak N-Heksana dan Petroleum Eter.....47
Gambar 4.5. Spektra FTIR Isolat 16 Ekstrak n-heksana.....49
Gambar 4.6. Spektra FTIR Isolat 11 Ekstrak Petroleum Eter.....50

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Kandungan Nutrisi pada *Hydrilla verticillata* 8
Tabel 4.1. Hasil Rendemen Ekstrak N-heksana dan Petroleum Eter.....33
Tabel 4.2. Jumlah Noda yang Terbentuk pada KLTA 36
Tabel 4.3. Hasil Pemisahan Senyawa Steroid dengan KLTP 38
Tabel 4.4. Nilai EC_{50} Isolat Steroid *Hydrilla verticillata* 44
Tabel 4.5. Tingkat Kekuatan Antioksidan 45
Tabel 4.6. Interpretasi Spektrum Inframerah Isolat 16 Ekstrak N-heksana.....49
Tabel 4.7. Interpretasi Spektrum Inframerah Isolat 11 Ekstrak Petroleum Eter 50

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian 59
Lampiran 2. Diagram Alir.....60
Lampiran 3. Perhitungan.....65
Lampiran 4. Data Pengukuran Kadar Air dan Perhitungan Rendemen 69
Lampiran 5. Data Hasil Uji Antioksidan 75
Lampiran 6. Data Hasil Indentifikasi 80
Lampiran 7. Dokumentasi.....91

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRAK

Sulistiyani, L.M. 2017. Pemisahan dan Uji Antioksidan Isolat Steroid Hasil KLTP Ekstrak n-Heksana dan Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*Danau Ranu Grati. Pembinbing I : A. Ghanaim Fasya, M.Si; Pembimbing II : Mujahidin Ahmad, M.Sc; Konsultan: Ahmad Hanapi, M.Sc.

KataKunci:*Hydrillaverticillata*, Steroid, Kromatografi Lapis Tipis, UjiAntioksidan.

*Hydrilla verticillata*adalah tumbuhan air yang merupakan bagian dari ekosistem danau dan berperan sebagai sumber daya baik langsung maupun tidak langsung. Kandungan senyawa aktif dari *Hydrilla verticillata*berpontensi sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, antimikrobadan antitumor. Salah satu senyawa aktif dalam *Hydrilla verticillata* adalah steroid. Senyawa steroid dari berbagai tumbuhan banyak dimanfaatkan sebagai senyawa antioksidan, sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari isolate steroid yang berasal dariekstrak tumbuhan *Hydrilla verticillata*.

*Hydrilla verticillata*diekstrak dengan metode maserasi tunggal menggunakan pelarut n-Heksana dan petroleum eter. Ekstrakkasar n-Heksana dan petroleum eterdipisahkanmenggunakan KLTP. Isolat steroidhasilpemisahandiidentifikasidengan instrument UV-Vis dan FT-IR, danjugadiuji antioksidannyamenggunakanmetode*Di Phenyl Picryl Hydrazyl* (DPPH).

Hasil penelitian ini menunjukkan nilai EC_{50} dari isolat steroid noda 16 ekstrak n-heksana sebesar 56,49 ppm dan dari isolat steroid noda 11 ekstrakpetroleum eter sebesar 48,56 ppm. Hasil pengujian dengan UV-Vis menunjukkan adanya ikatan rangkap C=C tidak berkonjugasi. Hasil identifikasi FTIR menunjukkan gugus fungsi O-H, C=C, $-CH_3$, $-CH_2$.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

Sulistiyani, L.M. 2017. Separation and Antioxidant Test of Steroid Isolates Results of KLTP N-Hexane and Petroleum Ether Extract Hydrilla verticillata Danau Ranu Grati. Supervisior I: A. Ghanaim Fasya, M.Sc; Supervisor II: Mujahidin Ahmad, M.Sc; Consultant: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Key words: Hydrilla verticillata, Steroids, Thin Layer Chromatography, Antioxidant Test.

Hydrilla verticillata are aquatic plants that are part of the lake ecosystem and act as resources both directly and indirectly. The active compound content of Hydrilla verticillata has the potential as an antioxidant, antibacterial, anticancer, antimicrobial and antitumor. One of the active compounds in Hydrilla verticillata is steroids. Steroid compounds from various plants are widely used as antioxidant compounds, so this study aims to determine the antioxidant activity of steroid isolates derived from plant extracts of Hydrilla verticillata.

Hydrilla verticillata is extracted by a single maceration method using n-hexane and petroleum ether solvents. Crude extracts of n-hexane and petroleum ether were separated using KLTP. Separation steroid isolates were identified with UV-Vis and FT-IR instruments, and also antioxidant tested using the method of Phenyl Picryl Hydrazyl (DPPH).

The results of this study showed that EC_{50} values of steroid isolates stained 16 n-hexane extracts were 56.49 ppm and from steroid isolates the stains of 11 petroleum ether extracts were 48.56 ppm. The UV-Vis test results showed that the C = C double bond was not conjugated. FTIR identification results show the O-H function group, C = C, -CH3, -CH2.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الملخص

سوليستياني، ل، م. 2017. فصل واختبار مضادات الأكسدة من المنشطات عزل نتائج KLTPن-هكسان استخراج والبترول الأثير *Hydrillaverticillata* بحيرة رانو جراتي.المشرفالأول: غنائم فاشا،الماجستير؛المشرف الثاني:مجاهدين أحمد، الماجستير؛ المستشار: احمد حنفي، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: *Hydrillaverticillata* ، المنشطات ، كروماتوغرافيا طبقة رقيقة ، واختبار مضادات الأكسدة.

Hydrillaverticillata هو نبات ماء جزء من النظام البيئي للبحيرة ويعمل كمورد سواء بشكل مباشر أو غير مباشر. محتوى مركب نشط من *Hydrillaverticillata* لديه القدرة كمضاد للأكسدة ، مضاد للجراثيم ، مضاد للسرطان ، مضادات الميكروبات ومضاد للأورام. واحدة من المركبات النشطة في *Hydrillaverticillata* هي المنشطات. تستخدم مركبات الستيرويد من النباتات المختلفة على نطاق واسع كمركبات مضادة للأكسدة ، لذلك تهدف هذه الدراسة إلى تحديد النشاط المضاد للأكسدة لعزلات الستيرويد المشتقة من المستخلصات النباتية من *Hydrillaverticillata*.

تم استخراج *Hydrillaverticillata* بواسطة طريقة واحدة للتسخين باستخدام ن-هكسان والبترول الأثير. تم فصل مستخلصات الأكسيد الخام و مستخلصات البترول باستخدام KLTP. تم تحديد العزلات الستيرويد من الفصل بواسطة أجهزة UV-Vis و FT-IR ، وتم اختبار مضادات الأكسدة باستخدام طريقة (DPPH) *Phenyl PicrylHydrazyl*.

أظهرت نتائج هذه الدراسة أن قيمة EC_{50} لعصارات الستيرويد اللطخة كانت 16 مستخلص هكسان n بتركيز 56.49 جزء من المليون و من بقع العزلات الستيرويد 11 من مستخلصات الإثير من 48.56 جزء في المليون. تظهر نتائج اختبار UV-Vis أن هناك رابطة مزدوجة C = C غير مترافقة. أظهرت نتائج تحديد FTIR مجموعة وظيفية O-H، C = C، CH3-، CH2-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LatarBelakang

Indonesia merupakannegara yang kaya sumberalamdanmemilikisumberhayati yang melimpah.Salah satunyatanamanhayati yang tumbuh di kawasanperairandanau.Namunsebagianbesartumbuhantersebutmasihbelumdiekspl orasi.Tentunyaterdapatbanyakpotensialam yang dimiliki,sehinggaperludilakukaneksplorasi.Sesuaidengan yang tersirat dalamsuratasySyuara'ayat7 :

اَوَلَمْ يَرَوْا اِلَى الْاَرْضِ كَمْ اَنْۢبَتْنَا فِيْهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ

Artinya :*"Dan apakahmerekatidakmemperhatikanbumi, betapabanyak kami tumbuhkan di bumiitu**berbagaimacamtumbuh-tumbuhan yang baik**?" (asy Syuara'/19 : 7)*

Ayat tersebutmenjelaskanbahwa Allah menciptakantumbuhandenganmemilikibanyakmanfaatdantakterhitungjumlahnya, baikitutumbuhan yang hidup di daratmaupun di air. Hal ini sesuai dengan penjelasan menurut tafsir fi Zhilalil-Qur'an:

> "Indra yang keras dan pikiran yang bodoh serta hati yang terkunci agar menyaksikan dan memperhatikan keindahan dan keistimewaan ciptaan Allah yang tersebar disekitar manusia pada setiap zaman dan tempat. Tumbuh-tumbuhan itu mulia dengan segala kehidupan yang ada didalamnya yang bersumber dari Allah yang Mahamulia. Ungkapam ini mengisyaratkan kepada jiwa untuk menerima dan merespon ciptaan Allah dengan sikap yang memuliakan, memperhatikan, dan memperhitungkannya, bukan menghinakan, melalaikan, dan meremehkannya (Quthb, 2004)."

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Manusia yang diciptakan sebagai kholifah di bumi, diharuskan mengetahui, memperhatikan dan tidak merusaknya serta dapat memanfaatkan dengan baik potensi yang dimiliki tumbuhan itu. Adapun manfaatnya bisa digunakan diberbagai keperluhan, seperti sebagai bahan makanan, kosmetik obat-obatan, dan sebagainya. Salah satutumbuhantingkatrendah yang memilikibanyakmanfaatadalah*Hydrilla verticillata.*

*Hydrillaverticillata*merupakansalahsatutumbuhan air yang banyaktumbuhdi danauRanuGrati.Kelimpahannya sekitar 40 % dariluasnyadanauRanuGrati.Masyarakat sekitar kurang memperhatikanmanfaatdaritumbuhan ini bahkan dianggap sebagaigulma.Tumbuhan ini sendiri diluar negeri sudah digunakan sebagai bahan dari suatu suplemen makanan yang berguna sebagai penambah antioksidan dalam tubuh (Pal dan Nimse, 2006). Berdasarkan penelitian dari Byju, dkk (2012) menunjukkan bahwa *Hydrillaverticillata* berguna sebagai antikanker, antitumor, antibakteri dan antimikrobial.

Kandungannutrisi*Hydrillaverticillata*yaitu1,74% protein, 0,54% lemak, 1,82% seratkasar, 1,51% abu, 3,97% karbohidratdan 90,42% air(Tanor, 2004). *Hydrillaverticillata*merupakanjenistumbuhan yang berwarnahijau, sehinggaterkandungbanyakklorofildidalamnya.MenurutKurniawan (2010) *Hydrillaverticillata*memilikikandunganklorofil total sebesar 4,43 mg/L, karotenoid 0,92 mg/Ldan vitamin C 4,70 mg/30g. Uji fitokimia dari *Hydrilla verticillata* menggunakan pelarut etanol, etil asetat, dan petroleum eter menunjukkan adanya senyawa aktif triterpenoid atau steroid (Hasanah, 2017).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berdasarkan penelitian Ikfi (2017) uji fitokimia *Hydrillaverticillata*dengan pelarut metanol, kloroform, dan n-heksana juga mengandung triterpenoid atau steroid.

Metabolit sekunder berupa steroid dapat memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini berdasarkan penelitian Krisna (2014) yang menunjukkan isolatsteroid dari ekstrak daun gayam (*Inocarpus fagiferus Fosb*) bersifat antioksidan terhadap difenilpikril hidrazil (DPPH) dengan nilai IC_{50} sebesar 4 ppm. Menurut penelitian Rahmawati (2016) uji aktivitas antioksi dan isolat steroid dari mikroalga *Chlorella sp.* memiliki nilai aktivitas EC_{50}sebesar 73,82 ppm, sedangkan pada uji fraksi petroleum eter memiliki nilai aktvitas EC_{50} sebesar 152,30 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat steroid lebih kuat aktivitas antioksidannya dari pada fraksi.

Steroid yang terkandung dalam *Hydrillaverticillata* dapat diperoleh melalui ekstraksi. Metodeekstraksi yang dilakukanyaitumaserasi. Maserasiadalahproses perendamansampeldenganpelarutorganik yang digunakanpadasuhuruang (Darwis, 2000). Pengestrakansuatusampeldilakukandenganmenggunakanpelarut yang sesuaidenganberdasarkankepolarandarisampel yang akandianalisis yaitu pelarut n-heksana dan petroleum eter. Berdasarkan penelitian Hafiz (2017) mendapatkan isolat steroid dari ekstrak *Hydrillaverticillata* menggunakan pelarut n-heksana. Adanya isolat steroid juga didapat pada tumbuhan *Hydrillaverticillata* yang diekstrak dengan pelarut petroleum eter (Hasanah, 2017).

Metode yang digunakan untuk mengambil isolat steroid pada *Hydrillaverticillata* adalah Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Metodeinimerupakanmetodepemisahan yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

berdasarkanataspembagiancampuransenyawakedalamduafaseyaitufasediamdanfasegerak (Hendayana, 2006). Eluen yang digunakan pada metode KLTP adalah hasil eluen terbaik yang didapat dari metode Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA). Hal ini berdasarkan penelitian Al-Quais (2015) memisahkan isolat steroid dari ekstrak akar rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) yang menggunakan metode KLTA dan KLTP dengan hasil eluen terbaiknya n-heksana : etil asetat (8 : 2) dan menghasilkan 11 noda. Adapun metode pengujian aktivitas antioksidan dari isolat steroid *Hydrilla verticillata* adalah DPPH. Pengujianmetode DPPH inidilakukanuntukmengetahuinilai*Effective concentration* (EC_{50}), yangmerupakan parameter yang menunjukkankonsentrasiekstrakuji yang mampu meredamradikalsebanyak 50%. Keunggulan dari metode DPPH adalahdapat dikerjakan secara cepat, diperoleh hasil yang akurat, efisien, dan mudah dalam preparasi sampel (Pamarti, 2005).

Berdasarkan uraian diatas menunjukkan bahwa tumbuhan *Hydrilla verticillata* memiliki senyawa aktif yang bisa dimanfaatkan bioaktivitasnya. Hal ini menjadikan perlu dilakukan penelitian mengenai uji antioksidan dari isolat steroid hasil KLTP ekstrak n-heksana dan petroleum eter terhadap *Hydrilla verticillata*dari Danau Ranu. Hasildaripenelitian yang diperolehdiharapkandapatmemberikanpengetahuantentang*Hydrillaverticillata*yang memilikitingkatantioksidan yang tinggisehinggaberpotensisebagaiantikanker, antimikrobadanpestisida.

1.2 RumusanMasalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1. Bagaimana hasil pemisahan senyawa steroid ekstrak n-heksana dan petroleum eter *Hydrilla verticillata*dengan menggunakan KLTP?
2. Bagaimanahasilujiaktivitasantioksidanisolat steroid hasil KLTPekstrak n-heksana dan petroleum eter *Hydrilla verticillata*terhadap DPPH?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui hasil pemisahan senyawa steroid ekstrak n-heksana dan petroleum eter *Hydrilla verticillata*dengan menggunakan KLTP
2. Untuk mengetahui hasil uji aktivitas antioksidan isolat steroid hasil KLTP ekstrak n-heksana dan petroleum eter *Hydrilla verticillata*terhadap DPPH

1.4 BatasanMasalah

Batasan masalah yang diambil yaitu :

1. Sampel yang digunakan berasal dari Danau Ranu Grati Kabupaten Pasuruan
2. Metodeekstraksi yang digunakanadalahmetodeekstraksi maserasi denganmenggunakanpelarut n-heksana dan petroleum eter
3. Uji antiosidan dilakukan menggunakan metode DPPH dengan menghitung nilai EC_{50}
4. Identifikasi senyawa aktif menggunakan instrumen UV-Vis dan FTIR

1.5 Manfaaat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Penelitianinidiharapkandapatmemberikaninformasiilmiahkepadamasyarakat mengenaipotensiantioksidanisolat steroid*Hydrilla verticillata*sehinggadapatdimanfaatkan di bidangfarmakologi.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Hydrilla verticillata*

Hydrilla verticillata hidup secara submersum dan sering terdapat pada perairan-perairan tergenang seperti danau atau waduk (Shofawie, 1990).Seluruh bagian tubuh tumbuhan ini tenggelam di bawah permukaan air. Tumbuhan ini termasuk dalam genus *Hydrilla* dengan spesies *Hydrilla verticillata* (L.f) Royle. Kingdomnya *plantae*, dengan divisi *magnoliophyta* dan kelas *liliopsida*. *Hydrilla verticillata* juga termasuk ordo *hydrocharitales* dan suku *hydrocharitaceae* (Ramesh, dkk., 2014).

Hydrilla verticillata akarnya panjang berbentuk sederhana. Batangnya merayap, tegak, ramping, didekat pangkalnya bebas bercabang, biasanya dibagian atas sedikit bercabang, dan cabang menyerupai batang utama seperti yang terlihatpadaGambar 2.1. Daun *Hydrillaverticillata* berbentuk ovate atau ovate luas dengan lebar 2-4 mm dan panjang 6-20 mm, berwarna hijau dengan atau tanpa bercak coklat kemerahan dan garis-garis, pada dasarnya lebar, berduri. Pelepah daun sering berwarna merah dan memiliki satu duri di bawah permukaannya. Bunganya uniseluler dan jarang ada, apabila ada akan tumbuh pada ketiak daun menuju permukaan air melalui tangkai bunga yang panjang, berwarna putih dengan 3 mahkota dan 3 kelopak (Christopher, 1982).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Gambar 2.1 *Hydrillaverticillata*

Kandungan nutrisi pada *Hydrilla verticillata* yang tinggi adalah saponin, β-karoten, polisakarida, asam amino, mikro dan makronutrien, antioksidan dan agen detoksifikasi (Pal dan Nimse, 2006). Kandungan klorofilnya sebesar 4,43 mg/L, karotenoid 0,92 mg/L dan vitamin C 4,70 mg/30g(Kurniawan,2010). *Hydrillaverticillata* memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan dan antitumor sehingga dapat mendukung sistem kekebalan tubuh (Ramesh, dkk., 2014).

Berdasarkankandungan yang dimilikitumbuhan*Hydrilla verticillata*, menunjukkanbahwasemuamakhlukciptaan Allah memilikikegunaan yang dapatdimanfaatkandenganbaikolehmanusia. Hal inisesuaidenganyang tersiratdalamal-Quran surat al-Baqarahayat29 :

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ ۚ وَهُوَ بِكُلِّ

شَيْءٍ عَلِيمٌ

Artinya : Dialah Allah, yang menjadikan ***segala yang ada di bumi untuk kamu*** *dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu (surat al-Baqarah/1 : 29).*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Menurut tafsir fi Zhilalil-Qur'an dari ayat tersebut kata "*untuk kamu*" memiliki makna dan kesan yang dalam. Ini merupakan kata pasti yang menetapkan bahwa Allah menciptakan manusia dalam urusan yang besar, yaitu diciptakan sebagai makhluk tertinggi dimuka bumi yang dapat menguasainya dan mengelolanya, sehingga manusia memperoleh manfaat dan mengambil perbandingan darinya (Quthb, 2000). BerdasarkantafsirtersebutAllah SWT menciptakan segala sesuatu di muka bumi dengan tidak sia-sia.Penciptaan Allah memilikikandunganmanfaattersendiri.Manusia diberikan kesempatan yang seluas-luasnya untuk mengambil manfaat tersebut dengan mengelolanya. Salah satunyadenganmemanfaatkankandungan yang adapada tumbuhan *Hydrilla verticillata.*

Adapunkandungansenyawakimia yang laindalam*Hydrilla verticillata*ditunjukkanpadaTabel 2.1 (Pal dan Nimse, 2006):

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi pada *Hydrilla verticillata*

Nutrisi/Mineral	**Jumlah (mg/10,50 gr)**	**Nutrisi/Mineral**	**Jumlah (mg/10,50 gr)**
Vitamin B-1	26.20	Fosfor	29,70
Vitamin B-2	0,08	Besi	35,80
Vitamin B-3	5,20	Seng	6,30
Vitamin B-5	11,40	Mangan	24,50
Vitamin B-6	35,90	Tembaga	0,20
VitaminB-12	1,10	Kobalt	0,40
Kalsium	1460	Molibdenum	15 µg/10,50 g
Magnesium	76,10	B-karoten	19600 IU/10,50 g
Potassium	245		

Beberapa penelitian tentang isolasi senyawa kimia dari *Hydrilla verticillata* juga dilakukan, diantaranya didapatkan senyawa kimia seperti *loliolide*, *thymidin*, asam oktadekanadioat (Xiao, dkk. 2007). Byju, dkk (2012) juga mengemukakan adanya senyawa *phytol*, *3-octen-2-one,7-methyl,hexyl*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tetradecyl ester, dan 2-*hexadecen*-1-ol,3,5,11,15-tetrametil. Selain itu, diperoleh juga senyawa asam linoleat, asam heksadekanadioat, dan asam oktadekatrienoat (Prabha dan Rajkumar, 2015).

2.2 Steroid

Steroidmerupakansenyawametabolitsekunderdenganberbagaifungsibiologis yang pentingdantersebarluasbaikdalamjaringantumbuhanmaupunhewan.Fungsi dari senyawa steroid selain sebagai pelindung diri, juga berfungsi sebagai hormon, dimanasebagaipemicupada proses pertumbuhan (Fessenden,1997). Peranan kecil yang dimiliki oleh setiap senyawa dalam tubuh tumbuhan memberikan kesempurnaan yang sesuai bagi tanaman itu sendiri. Hal ini menunjukkan bahwa Allah menciptakan segala sesuatunya dengan sempurna, sesuai yang tersirat dalam surat al-A'la ayat 1 dan 2.

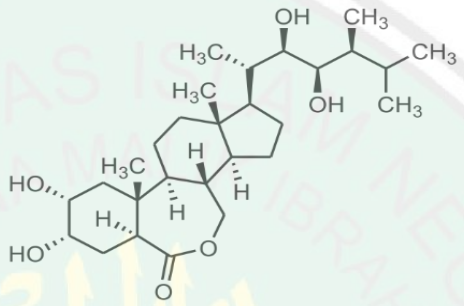
سَبِّحِ اسْمَ رَبِّكَ الْاَعْلَى {١} اَلَّذِى خَلَقَ فَسَوَّى{٢} وَالَّذِى قَدَّرَ فَهَدَى {٣}

Artinya: "*Sucikanlah nama Tuhanmu yang Mahatinggi, yang* ***menciptakan dan menyempurnakan*** *(penciptaa-Nya), dan yang* ***menetukan kadar (masing-masing)*** *dan memberi petunjuk." (al-A'la/30 : 1-3)*

Ayat tersebut menurut tafsir fi Zhilalil-Qur'an menjelaskan bahwa Mahasuci Tuhan yang Mahatinggi, yang telah menciptakan segala sesuatu dan menyempurnakan ciptaannya pada tingkat kesempurnaan yang sesuai untuknya, dan dengan kententuan kadar masing-masing dimana untuk kebutuhan hidupnya, serta allah memberi petunjuk (Quthb, 2000). Peranan dari setiap zat yang diciptakan dalam suatu tumbuhan yang berjalan saling melengkapi sehingga berguna untuk dirinya dan disekitarnya. Hal tersebut telah Allah tunjukkan baik secara langsung maupun tidak langsung.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Steroid merupakan senyawa yang tergolong dalam senyawa lemak yang terdiri dari rantai karbon dengan 4 cincin, 3 cincin utama sikloheksana dan 1 cincin siklopentana. Turunansenyawa steroid adalah kolesterol, Ergosterol, progesterone, dan estrogen(Poedjiadi, 2012).Pengelompokan senyawanya berdasarkan pada gugus yang terikat pada kerangka dasar rantai karbon (Kristanti,2008). Struktur dari steroid sendirisepertipadaGambar 2.2.



Gambar2.2 Struktursenyawasteroid

Senyawa steroid dapat memberikanaktivitasantioksidan yang tinggi, seperti yang dilakukanolehKrisna (2014) yang menunjukkan isolatsteroid dari ekstrak daun gayam (*Inocarpus fagiferus Fosb*) bersifat antioksidan terhadap DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 4 ppm.Steroid jugadapatmemberikantoksisitas yang tinggi. Hal iniberdasarkanpenelitianMillati (2016) yang menunjukkanisolat steroid darihasil KLTPfraksi petroleum etermikroalga*Chlorella sp*toksikterhadap larva udangdengannilai LC_{50}sebesar 19,68 ppm.

2.3 Isolasi Senyawa Steroid

Isolasi senyawa steroid dari *Hydrilla verticillata* dapat dilakukan dengan beberapa tahapan sebagai berikut,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.3.1 Ekstraksi Senyawa Steroid

Berdasarkan penelitian Hafiz (2017) semua ekstrak *Hydrilla verticillata* memberikan warna hijau kebiruan pada uji golongan senyawa steroid yang menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung golongan senyawa steroid. Steroid merupakan golongan senyawa yang sebagian besar bersifat nonpolar maka ekstraksinya bisa menggunakan pelarut non polar misalnya n-heksana atau petroleum eter. Selain pelarut non polar biasanya juga dapat menggunakan pelarut polar seperti metanol atau etanol sebagai pelarut universal, karena pada bahan alam steroid sering ditemukan sebagai glikosida atau sebagai glikon dan aglikon (Kristanti, 2008).

Salah satu metode yang digunakan untuk ekstraksi bahan alam adalah maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan, sehingga zat aktif yang terkandung dalam bahan tidak rusak. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut berdasarkan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar(Lenny, 2006). Keuntungan dari metode ini adalah peralatanya mudah ditemukan dan pengerjaanya sederhana (Mustofa, 2008). Hasil penelitian yang dilakukan Daud, dkk (2011) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan daun jambu biji dengan ekstraksi maserasi lebih tinggi dari pada menggunakan ekstraksi soxhlet.

Berdasarkan penelitian Ikfi (2017) melakukan ekstraksi maserasi *Hydrilla verticillata*menggunakan pelarut n-heksana dengan diperoleh hasil rendemen

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

adalah sebesar 3,80 %, sedangkan hasil rendemen ekstraksi maserasi*Hydrilla verticillata*dengan pelarut petroleum eter adalah sebesar 2,14 % (Hasanah, 2017). Hasil uji kandungan senyawa aktif pada *Hydrilla verticillata* menunjukkan positif adanya senyawa steroid (Hafiz dan Hasanah, 2017). Penelitian Zahro (2011) melakukan ekstraksi maserasi tanaman anting-anting (*Acalypha indica Linn.*) menggunakan pelarut n-heksana yang menghasilkan warna ekstrak kuning kecoklatan dengan rendemen sebesar 2,51 %, dan dengan hasil uji kandungan senyawa aktif menunjukkan positif adanya senyawa steroid.

2.3.2 UjiFitokimiaSenyawa Steroid

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan yang terdapat dalam tumbuhan *Hydrilla verticillata*, khususnya kandungan senyawa steroid. Senyawa steroid tidak terdapat pada setiap tumbuhan. Ada beberapa tumbuhan didalamnya tidak terdapat senyawa steroid tetapi miliki senyawa lainya. Ada beberapa tumbuhan yang terkandung steroid yang sangat sedikit, ada pula yang memiliki kandungan yang banyak. Hal ini menunjukkan bahwa setiap tumbuhan memiliki kandungan tertentu dengan ukuran yang benar-benar telah ditentukan oleh Allah. Seperti yang dijelaskan pada surat al-Qomar ayat 49.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَٰهُ بِقَدَرٍ

Artinya : *"Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu* ***menurut ukuran****." (al-Qomar/27: 49)*

Shihab (2002) menyatakan bahwa yang dimaksud dengan kata *biqadar*adalah bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan ukuran masing-masing tidak kurang dan tidak lebih. Kata *taqdiiraan* adalah bentuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

masdar dari kalimat *qaddara* yang dimaksudkan untuk meyakinkan kembali bahwa Allah SWT menciptakan sesuatu dengan sebaik-baiknya ukuran. Menurut tafsirfi Zhilalil-Qur'an ayat tersebut menjelaskan segala sesuatu, segala yang kecil, segala yang besar, segala yang bertutur, segala yang bisu, segala yang bergerak, segala yang diam, segala hal yang telah lampau, segala hal yang akan terjadi, segala hal yang diketahui, segala hal yang tidak diketahui, segala hal yang diciptakan menurut ukuran (Quthb, 2000). Berdasarkan kedua tafsir tersebut menunjukkan bahwa ukuran atau kadar menentukan segala sesuatu yang ada disekitarnya serta pengaruh yang sesuai terhadap keberadaannya.

Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder yang salah satunya adalah steroid (Lenny, 2006). Identifikasi steroid dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna. Pereaksi yang dapat digunakan adalah reagen Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna hijaubiru.

2.3.3 Pemisahan Senyawa Steroid dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Pemisahan senyawa steroid hasilekstrakkasardapat dilakukan denganmenggunakan kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakanmetode yang seringdigunakanuntukmemisahkankomponen-komponensenyawadalamsuatusimplisia yang berdasarkan proses adsorbsidanmelibatkanduapeubahyaitufasediamatausifatlapisandanfasegerakatauc ampuranpelarutpengembang. Lapisan tipis seperti plat silika gel GF_{254} yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

digunakansebagaifasegerakmengandungindikatorflourosensiuntukmembantupenampakanbercaktanpawarnapadalapisan yang telahdikembangkan. Fasegerakmerupakan medium angkut yang terdiriatassatuataubeberapapelarut (Gritter, 1991).

Bercakpemisahanpada plat KLT umumnyamerupakanbercak yang tidakberwarna. Cara kimia yang digunakanyaitudenganmereaksikanbercakdengansuatupereaksimelaluicarapenyemprotansehinggabercakmenjadijelas. Lempengan plat diamatidibawahlampu UV yang dipasangdenganpanjanggelombangemisi 254 nm atau 366 nm untukmenampakkan *solute* sebagaibercak yang gelapatau yang berflouresensiterangpadadasaryang berflouresensiseragam. Hasil pemisahan senyawa steroid dengan KLTP dengan spot noda yang dihasilkan disemprotkan dengan reagen *Lieberman-Burchard*, untuk diamati perbandingan perubahan warnanya. Pengamatan noda senyawa steroid dengan beberapa cara yaitu, secara langsung (Suhaenah dan Nuryanti, 2017), dibawah lampu UV 366 nm (Hidayah, dkk., 2016), dengan hasil uji positif ditandai dengan terbentukya warna hijau dan biru pada noda yang terduga steroid.AnalisissecarakuantitatifKLT digunakanuntukidentifikasisenyawabakudengan parameter nilai Rf. NilaiRfdidefinisikansebagaiberikut (Rohman, 2007):

$$\text{NilaiRf} = \frac{Jarak\ yang\ digerakkan\ senyawa\ dari\ titikasal}{Jarak\ yang\ digerakkan\ oleh\ pelarut\ dari\ titik\ asal} \quad \ldots\ldots\ldots (2.1)$$

Berdasarkan penelitian Marliana(2007) yang menunjukkan identifikasi steroid dari ekstrak metanol batang *Spatholobus ferrugineus (Zoll & Moritzi) Benth*yang telahdisemprotkandenganpereaksi Lieberman-Burchardmemberikanhasilpositif yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ditandaidengantimbulnodaberwarnaunguhitam (Rf = 0,06), ungumerah (Rf = 0,16), ungugelap (Rf = 0,24), ungu (Rf = 0,37; 0,74) denganmenggunakaneluen n-heksana : etilasetat (4:1). Al-Quais (2015) jugamelaporkanhasil KLTA senyawa steroid padaekstrak akar rumput bambu (*Lophaterum gracile* B.) yang menggunakan eluen terbaik n-heksana : etil asetat (8 : 2), setelahdisemprotkandenganpereaksi Lieberman-Burchardmenghasilkan 7 noda yang berwarnaungu (Rf = 0,22), jingga (Rf = 0,56), ungu (Rf = 0,69), jingga (Rf = 0,74), jingga (Rf = 0,81), ungu (Rf = 0,86), danhijau (Rf = 0,94), sedangkanhasil KLTP mengasilkan 11 noda.BerdasarkanpenelitianHayati (2012) melakukan identifikasisenyawa steroid padatanaman anting-anting menggunakan KLT denganeluenn-heksana : etilasetat (7:3) dandisemprotdenganpereaksi Lieberman-Burchardmenghasilkan 9 nodadenganhijaukebiruan (Rf = 0,11), merahmuda (Rf = 0,38), hijau (Rf = 0,47), merahmuda (Rf = 0,56), warnahijaukebiruan (Rf = 0,66), birukehijauan (Rf = 0,68), oranye (Rf = 0,77), hijaukebiruan (Rf = 0,80), danhijaukebiruanmuda (Rf = 0,83).

2.3.4 Uji Antioksidan *Hydrilla verticillata*dengan Metode DPPH

Oksidan atau disebut juga dengan radikal bebas adalah molekul-molekul yang sangat reaktif didalam tubuh dan pada hakekatnya dapat merusak bio molekul yang penting didalam sel-sel, termasuk DNA (Molyneux, 2004). Adapun kebalikan dari oksidan terdapat antioksidan dimana merupakan substansi yang dapat menetralisir atau menghancurkan radikal bebas. Segala sesuatunya memiliki peranan dan pasangan tersendiri, yang berkerja dengan ketentuan masing-masing. Hal ini sesuai dengan yang tersiratdalam al-Quran surat Yasin ayat 36.

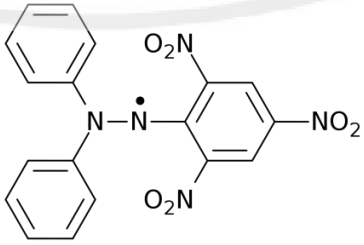
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

سُبْحَنَ الَّذِىْ خَلَقَ ٱلْأَزْوَجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ ٱلْأَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لاَيَعْلَمُوْنَ

Artinya : "*Maha suci tuhan yang telah* ***menciptakan pasangan-pasangan semuanya****, baikdari apa yang tumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui"(Yasin/ 22: 36).*

Ayat tersebut menjelaskan sebagai bentuk pengagungan terhadap Allah yang sudah menciptakan semua secara berpasang-pasangan, baik tumbuh-tumbuhan hewan, manusia serta yang tidak diketahui oleh makhluk (Al-Jazairi, 2009). Hal ini juga berlaku bagi suatu zat, dimana oksidan memiliki pasangan antioksidan yang memiliki peranan masing-masing, sehingga berguna untuk disekitarnya.

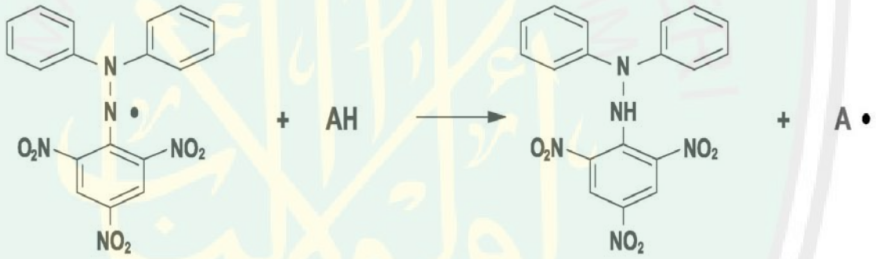
DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam (Molyneux, 2004). DPPH pertama kali ditemukan pada tahun 1992 oleh Goldschmidt dan Renn. Senyawa ini sangat berguna dalam berbagai penyelidikan seperti penentuan antioksidan senyawa fenol atau senyawa alami (vitamin, ekstrak tumbuh-tumbuhan, obat-obatan). DPPH bersifat tidak larut dalam air, berwarna ungu pekat seperti $KMnO_4$dan bentuk tereduksinya 1,1-*diphenyl-2-picrylhydrazine*(DPPH-H) berwarna jinggakekuningan (Ionita, 2005). Struktur dari DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur DPPH

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Metode DPPH adalah sebuah metode sederhana yang dapat digunakan untuk menguji kemampuan antioksidan yang terdapat pada makanan. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel yang padat dan juga dalam bentuk larutan. Prinsipnya dimana elektron ganjil pada molekul DPPH memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm yang berwarna ungu. Warna ini akan berubah dari ungu menjadi kuning lemah apabila elektron ganjil tersebut berpasangan dengan atom hidrogen yang disumbangkan senyawa antioksidan (Prakash, 2001). Reaksi radikal bebas DPPH dengan atom H netral yang berasal dari senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi radikal bebas DPPH dengan antioksidan

Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga konsentrasi efisien atau EC_{50} yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikalbebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin kecil nilai EC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas, dengan kata lain EC_{50} merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menurunkan sebesar 50% dari konsentrasi substrat (radikal DPPH) (Rohman dkk, 2005).

2.4 Identifikasi Senyawa Steroid dengan Spektrometer

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Identifikasi dengan suatu spektrometer dilakukan untuk menganalisis suatu zat, sehingga didapatkan informasi mengenai zat tersebut. Setiap spektrometer memiliki daya analisis berbeda-beda, tergantung pada jenis spektrometer tersebut.

Hasilanalisis yang dikeluarkan spektrometer berupaspektraatau spektrum yang manamemberikan informasi kepada analis, sehingga mengetahui zat yang terkadung dalm suatu zat tersebut. Kemampuan spektrometer ini mempermuda analis untuk membaca atau mempelajari suatu hal yang tidak bisa diketahui secara langsung. Hal ini sesuai dengan yang t alam al-Quran surat al-Alaq ayat 1.

اِقْرَأْبِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِى خَلَقَ

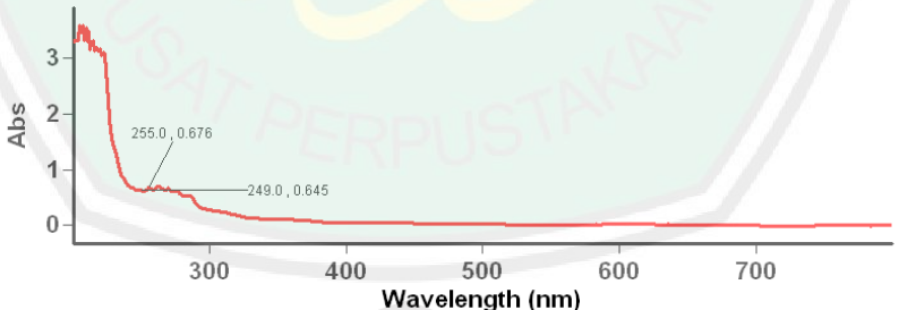
Artinya: *"**Bacalah** dengan menyebut nama Allah yang menciptkan"(al-Alaq/30:1)*

Menurut tafsir Al-Jaelani menjelaskan bahwa Allah mengajak atau menyuruh untuk membaca dan belajar dengan perenungan dan pendalaman bahwa Tuhan yang mampu menciptakan manusia dari asal yang lemah akan mampu pula untuk mengajarkanya menulis, yang merupakan saran penting untuk mengembangkan ilmu pengetahuan dan mengejarkan sesuatu yang belum diketahui (Jaelani, 2011). Manusia yang memiliki akal dan wajib mengatahui pengetahuan yang ada disekitarnya, untuk berguna bagi kehidupannya. Hal ini juga dengan cara membaca atau dengan mampu menganilis hasil identifikasi dari suatu spektrometer, sehingga memperkaya pengetahuan baik berupa hal kecil maupun besar. Pengetahuan yang banyak akan menunjukkan bahwa segala sesuatu kebesaran yang diciptakan allah.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.4.1 Identifikasi Senyawa Steroid dengan MenggunakanSpektrometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakansuatuanalisis yang berdasarkanataspengukuranresapansuatularutan yang dilaluiradiasimonokromatis. Penyerapancahayaolehmolekuldalamdaerahspektrum ultraviolet tergantungpadastrukturelektronikdarimolekul.Spektrum ultraviolet darisenyawa-senyawa organik berikataneratdengantransisi-transisidiantaratingkatan-tingkatantenagaelektronik (Sastrohamidjojo, 1998).Menurut Creswell(1982) spektrum ultraviolet merupakansuatugambarantarapanjanggelombangataufrekuensiserapanlawanintensitasserapan (transmisiatauabsorbansi).Suatu spektrofotometer UV-Visdapatmengukurdanmerekamspektrumserapansenyawatumbuhandalambentuklarutan. Spektrumtampakterentangpanjangdari 400 nm (ungu) sampai 750 nm (merah), sedangkanspektrum ultraviolet terentangdari 100 nm sampai 400 nm(Fessenden, R. dan Fessenden, J., 1995).



Gambar 2.5 Spektra UV-Vis isolat steroid (Al-Quais, 2015)

Spektrum UV senyawa steroid penelitian Al-Quais, K., (2015) darihasilisolasirumput bambu (Gambar 2.5) mempunyaiserapanmaksimumpadapanjanggelombang 249 dan 255 nm menunjukkanadanyaguguskromofor yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

khasuntuksistemikatanrangkapdaricincinalifatinya. Berdasarkan data UV-Vis hasilisolasitersebutberasaldarigolongan non aromatikyaituterpenoidatau steroid.Adanyaserapanpadapanjanggelombangtersebutdidugaakibatadanyatransisi elektrondari $\pi \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan gugus kromofor C=C.

Berdasarkanpenelitiandari Oliveira, dkk (2015) melakukanidentifikasimetabolitsekundergolongan steroid dariekstrak*P. boergeseniidan S. stenophyllum*menggunakanspektrofotometer UV-Vis menunjukkan pita serapanpanjanggelombangmaksimum 290-310 nm.Jenissteroidnyaadalahfukosterol.Hasilisolasisenyawa steroid dari alga merahmenunjukkanbahwapadaserapangelombangmaksimum 238 nm pada steroid 3β-hidroksiporifera-5-en-7-on dan pada panjang gelombang 278 nm pada steroid poriferasta-3,5-dien-7-on (Dast, dkk., 1992).

2.4.2 Identifikasi Senyawa Steroid dengan MenggunakanSpektrometer FTIR

Spektroskopi inframerah adalah sebuah metode analisis instrumentasi pada senyawa kimia yang menggunakan radiasi sinar inframerah. Spektrofotometri inframerah digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi senyawa dan menganalisa campuran (Day dan Underwood, 1986). Penerapan spektrofotometer inframerah sangat luas, biasanya untuk analisis kualitatif. Sinar inframerah dilewatkan melalui suatu cuplikan senyawa organik, sehingga sejumlah frekuensi diserap sedang frekuensi yang lain diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Kegunaan utama dari spektrofotometer IR yaitu

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

untuk mengidentifikasi keberadan suatu gugus fungsi dalam suatu senyawa organik berdasarkan spektrum yang khas pada daerah inframerah.

Berdasarkan penelitian Ningsih, dkk (2015) melakukan identifikasi senyawa steroid dari *Eucheuma spinosum* hasil identifikasi menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 3417 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus O-H, serapan pada panjang gelombang 2923 dan 2853 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C_{sp3}-H. Gugus C=C ditunjukkanpadaserapanbilangangelombang 1647 cm^{-1}dangugus C-O alkoholberadapadaserapanbilangangelombang 1099 cm^{-1}. Sinulingga (2011) menyatakanbahwaterdapatserapankuatpadabilangangelombang 1712,79 cm^{-1}menunjukkanadanyagugus C=O, serapankuatpadabilangangelombang 1458,18 cm^{-1}menunjukkanadanyagugus C=C aromatik, bilangangelombang 1242,1[illegible] $^{-1}$ nenunjukkanadanyagugus C-O, gugus C-H alifatikditunjukkanpadaserapangelombang 2924,06 cm^{-1}, bilangangelombang3425,58 cm^{-1}menunjukkanadanyagugus OH,danbilangangelombang 1373,32 cm^{-1}menunjukkanadanyagugus C-H metal. Data yang diperolehdidugaterdapatsenyawa steroid atautriterpenoidpadaakartanamanekornaga.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Edukasi Organik, Jurusan Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, pada bulan Maret - September 2018.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat-alat gelas seperti *erlenmeyer*tutup 500 mL, *aluminium foil*, batang pengaduk, kertas saring, gelas arloji,*erlenmeyer* vakum, corong *buchner*, timbangan analitik, spatula, gelas ukur 250 mL, *beakerglass* 100 mL, *beakerglass* 50 mL, labu ukur 5 mL, labu ukur 20 mL, pipet ukur 5 mL, pipet ukur 1 mL, pipet ukur 10 mL, corong gelas, *shaker*, *vacuum rotary evaporator*, desikator, gelas ukur 100 mL, bola hisap, pipet tetes, plat silika gel GF_{254}, gunting, pipa kapiler, botol vial, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *sentrifuge*, tabung *sentrifuge*, bejana KLT. Instrumentasi yang digunakan yaitu UV-Vis, dan FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Hydrillaverticillata* yang berasal dari Danau Ranu Pasuruan. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah n-heksana p.a, petroleum eter p.a, etil asetat, larutan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DPPH 0,20 mM, etanol, reagen Lieberman-Burchard(asam asetat anhidrat, H_2SO_4 pekat, kloroform 96% p.a), pelet KBr.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan berikut:

1. Preparasi sampel
2. Penentuan kadar air secara Termogravimetri
3. Ekstraksi senyawa steroid
4. Uji Fitokimia steroid
5. Pemisahan senyawa steroid dengan KLTA
6. Pemisahan senyawa steroid dengan KLTP
7. Uji antioksidan senyawa steroid menggunakan metode DPPH
8. Identifikasi steroid dengan instrumen
9. Analisa data

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Preparasi Sampel(Hafiz, 2017)

Pengambilan sampel di Danau Ranu dilakukan secara *purposive random* di permukaan air dimana jarak antara permukaan dengan dasar air ± 2 m. Sampel diambil sebanyak 8 Kg dan dicuci dengan air.Selanjutnya dikeringkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung atau dengan naungan sampai kering.Setelah itu, sampel yang sudah kering dihaluskan dengan ukuran 90 mesh di Materia Medika Kota Batu.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4.2 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri(AOAC, 1984)

Cawan porselen disiapkan terlebih dahulu, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105°C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Selanjutnya cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Setelah itu, sebanyak 5 g sampel dimasukkan dalam cawan porselen, kemudian dimasukkan dalam oven dan dikeringkan pada suhu 100-105°C sekitar ±15 menit, lalu sampel disimpan dalam desikator sekitar ± 10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ±15 menit, didinginkan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang kembali.Perlakuan ini diulangi hingga tercapai berat konstan.Kadar air dalam *Hydrillaverticillata*dihitung menggunakan persamaan (3.1).

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \quad \text{.....(3.1)}$$

Dimana : a =bobot cawan kosong

b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan

c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

3.4.3 Ekstraksi Senyawa Steroid

Ekstraksi komponen aktif dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi. Sampel *Hydrilla verticillata* yang telah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 50 g dan diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut 250 mL n-heksana dan 250 mL petroleum eter sebanyak 5 kali dan dilakukan pengocokan menggunakan *shaker* selama 3 jam dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*). Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan corong *Buchner*. Filtrat yang diperoleh

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dari masing-masing pelarut digabung menjadi satu dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vacum.* Ekstrak pekat ditimbang lalu dihitung rendemennya dengan persamaan 3.2 (Khopkar, 2003).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \text{x}100\% \quad (3.2)$$

3.4.4 Uji Fitokimia Steroid

Uji dilakukan dengan melarutkan ekstrak kasar dari kedua pelarut n-heksana dan petroleum eter kedalam 0,50mL kloroform 0,50mL asam asetat anhidrida dan 1 – 2 mL asam sulfat pekat (melalui dinding tabung), warna hijau kebiruan menunjukkan adanya golongan senyawa steroid (Kristanti, 2008).

3.4.5 Pemisahan Senyawa Steroid dengan KLTA

Pemisahan dengan KLTA dengan menggunakan plat silika GF_{254} dengan ukuran 1 cm x 10 cm yang sudah diaktivasi dengan pemanasan dalam oven pada suhu 60-100℃ selama 15 menit. Ekstrak kasar yang sudah dilarutkan dengan pelarutnya dengan konsentrasi 1000 ppm ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan dan dielusi dengan fase gerak n-heksana : etil asetat dengan perbandingan tertentu, pada percobaan ini digunakan 5 macam variasi sebagai berikut:

V1 = 19 :1 (n-heksana : etil asetat) (Muharram, 2010)

V2 = 18 :2 (n-heksana : etil asetat) (Hartini dan Suyatno, 2016)

V3 = 17 :3 (n-heksana : etil asetat) (Azizah, 2016)

V4 = 16 :4 (n-heksana : etil asetat) (Hartini dan Suyatno, 2016)

V5 = 15 : 5 (n-heksana : etil asetat) (Dukomalamo, dkk., 2016)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Setelah eluen mencapai garis batas atas, elusi dihentikan. Pemisahan noda yang terbentuk diamati dengan lampu UV-Vis pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Spot noda dari setiap variasi eluen disemprot reagen Lieberman-Burchard, dan diamati perubahan warna pada spot.

3.4.6 Pemisahan Senyawa Steroid dengan KLTP

Pemisahan senyawa steroid dilakukan dengan KLTP menggunakan plat silika gel GF_{254} dengan ukuran 10 x 20 cm. Ekstrak kasar yang sudah dilarutkan dengan pelarutnya dengan konsentrasi 1000 ppmditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah. Selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen yang memberikan pemisahan terbaik pada KLTA.Setelah gerakan fase gerak sampai pada garis batas, elusi dihentikan. Noda yang berbentuk pita dihitung Rfnya dan dibandingkan dengan Rf hasil KLTA dan spot noda juga semprotkan dengan reagen Lieberman-Burchard, untuk diamati perbandingan perubahan warnanya. Pengamatan noda senyawa steroid dengan beberapa cara yaitu, secara langsung (Suhaenah dan Nuryanti, 2017), dibawah lampu UV 366 nm (Hidayah, dkk., 2016), dengan hasil uji positif ditandai dengan terbentukya warna hijau dan biru pada noda yang terduga steroid. Noda yang diduga merupakan senyawa golongan steroid dikerok kemudian dilarutkan dalam pelarutnya selanjutnya disentrifugasi untuk mengendapkan silikanya. Masing-masing supernatan yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan gas N_2 hingga pelarut habis menguap sehingga diperoleh isolat pekat dari masing-masing noda.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4.7 Uji aktivitas Antioksidan terhadap DPPH

3.4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Etanol 95 % dipipet sebanyak 3 mL kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,20 mM sebanyak 1 mL, dimasukkan kedalamkuvet hingga penuh. Tabung reaksi kemudian diinkubasi dengan suhu 37 ℃ selama 30 menit. Selanjutnya dicari λ_{max} DPPH dan dicatat hasil pengukuran λ_{max} untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Hanani, dkk. 2005).

3.4.7.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Sampel dari masing-masing isolat dilarutkan dalam pelarutnya dengan konsentrasi sesuai hasil isolat yang didapat sebagai larutan stok. Uji aktivitas antioksidanya dibuat variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm dari larutan stok tersebut. Ekstrak masing-masing konsentrasi setelah diuapkan dari pelarutnya, dilarutkan kembali dengan etanol 95 % dan dipipet masing masing 3 mL dan ditambahkan 1 mL DPPH 0,20 mM kemudian diinkubasi dengan suhu 37 ℃ selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{max}yang telah didapatkan. Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya dengan persamaan 3.3 (Arindah, dkk. 2010).

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{absorbansi\ kontrol - absorbansi\ sampel}{absorbansi\ kontrol}\right) \times 100\ \% \quad (3.3)$$

Selanjutnya dihitung nilai EC_{50} nya dengan memperoleh persamaan regresi menggunakan program *"GraphPad prism5 software, Regression for analyzing doseresponse data.*Nilai EC_{50} juga dihitung dalam persamaan y = ax + b yang diperoleh dari kurva regresi linier dari hubungan persen aktivitas antioksidan dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

konsentrasi ekstrak antioksidan. EC_{50} dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% kedalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi EC_{50}. Kontrol yang digunakan yaitu larutan DPPH 0,20 mM dalam etanol 95%.

3.4.8 Identifikasi Steroid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Hasil isolate steroid ekstrak n-heksana dan petroleum eter diidentifikasi menggunakan UV-Vis. Pembuatan blanko dilakukan dimasukkan pelarut dari ekstrak tersebut pada kuvet dan dianalisis pada panjang gelombang 200-800 nm. Isolat yang didapat dilarutkan dalam pelarutnya dan dimasukkan ke dalam kuvet dianalisis spektrumnya pada panjang gelombang 200-800 nm.

3.4.9 Identifikasi Steroid Menggunakan Spektrofotometer FT-IR

Hasil isolat steroid n-heksana dan petroleum eter diidentifikasi menggunakan FTIR. Isolat yang didapat dicampur dengan pelet KBr lalu digerus bersamaan dengan mortar *agate*.Campuran pelet KBr dan sampel yang telah halus ditekan dengan tekanan 80 torr (8-20 torr per satuan waktu) selama 10 menit.Selanjutnya pelet yang telah ditekan dianalisis menggunakan FTIR.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa grafik dan angka yang kemudian dideskripsikan hasilnya.Hasil aktivitas antioksidan berupa data angka yang dinyatakan dalam EC_{50}. Identifikasi senyawa steroid dapat diketahui dengan melakukan analisis hasil uji KLT dari pengukuran jarak migrasi dan bentuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bercak noda senyawa pada dua fasa yang berbeda menggunakan parameter nilai Rf dan memperhatikan profil hasil pemisahan dari KLTP. Hasil identifikasi juga diperoleh dari spektrofotometerUV-Vis dan FT-IR berupa spektra yang kemudian dibandingkan menggunakan literatur.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah*Hydrilla verticillata* yang berada pada danau Ranu Grati Pasuruan. Keberadaannya cukup melimpah dan kurang dimanfaatkan oleh penduduk sekitar. Proses pengambilan *Hydrilla verticillata* dilakukan secara *purposive random*. Sampel yang diambil yaitu seluruh bagian dari tumbuhan tersebut, mulai dari ujung daun sampai ke akar-akarnya. Adapun pemilihan sampel diambil yang memiliki warna hijau yang segar dan berada dalam permukaan air dimana jarak antara permukaan dengan dasar air ±2 meter.

Pengambilan sampel *Hydrilla verticillata*disuatu wilayah yaitu di danau Ranu Grati menunjukkan bahwa salah satu kebesaran ciptaan Allah yang ada dibumi sangat luas. Hal ini sesuai dengan surat adh-Dhariyat ayat 20.

وَفِىْ الأَرْضِ اٰيٰتٌ لِّلْمُوْقِنِيْنَ

Artinya : “ *Dan* ***dibumi itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah)*** *bagi orang-orang yang yakin.” (adh-Dhariyat/26 : 20).*

Berdasarkan tafsir Jalalain ayat diatas menjelaskan bahwa dibumi banyak terdapat tanda-tanda yang menunjukkan kebesaran penciptanya dan kekuasaanya yang mengagumkan, yaitu melalui ciptaannya yang menyebar dibumi seperti gunung-gunung, hutan belukar, sungai-sungai, tumbuhan, hewan-hewan, dan lain-lain (As Suyuthi, J dan Jaluddin, A., 2010). Termasuk danau Ranu yang berada diwilayah Grati Pasuruan, dimana didalamnya tumbuh tumbuhan *Hydrilla verticillata* dengan subur dan melimpah yang dapat dimanfaatkan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hydrilla verticillata yang diambil dari danau dicuci sampai bersih untuk menghilangkan dari pengotornya dan dikeringkan. Proses pengeringan tidak mengenai sinar matahari secara langsung. Hal ini dilakukan agar tidak merusak senyawa aktif yang ada didalamnya dan bertujuan untuk mengurangi kandungan air yang masih terdapat dalam sampel sehingga tidak mengganggu dalam proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder. *Hydrillaverticillata* yang kering dihaluskan dengan ukuran ayakan 90 Mesh, sehingga didapat serbuk dengan ukuran partikel ≥ 90 Mesh. Penghalusan dilakukan untuk memperluas permukaan sampel sehingga memperbesar terjadinya kontak antara serbuk dengan pelarut (Sembiring, dkk., 2006). Semakin luas permukaan sampel maka proses ekstraksi akan semakin maksimal (Baraja, 2008). Hasil penghalusan dari sampel basah 8 Kg diperoleh serbuk *Hydrillaverticillata* sebanyak 435 g.

4.2 Penentuan Kadar Air Secara Termogravimetri

Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui kadar air yang terkandung dalam suatu bahan dengan carasampel dipanaskan menggunakan oven pada suhu 100-105 °C dan penimbangan yang dilakukan berulang-ulang sampai mencapai berat konstan. Penentuan kadar air sangat penting karena jumlah kadar air yang terkandung dalam sampel akan berpengaruh pada kualitas sampel dan dalam proses ekstraksi senyawa aktif. Kadar air yang rendah akan mempermudah proses ekstraksi sehingga diperoleh rendemen yang lebih banyak, serta dapat mempengaruhi daya tahan sampel. Adapun kadar air *Hydrillaverticillata*yang diambil dari danau Ranu Grati adalah sebesar 9,16 %.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Nilai kadar air *Hydrillaverticillata*yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan penelitian Joselin (2014) yang diambil dari sungai di Desa Sinaksak Sumatera Utara yaitu 8,60 %. Kadar tersebut tergolong kadar air yang rendah, dan berada di bawah kadar maksimum untuk ekstraksi. Adapun kadar air maksimum yang disyaratkan untuk berlangsungnya ekstraksi secara maksimal yaitu sebesar 11 % (Nurmillah, 2009).

4.3 Ekstraksi Senyawa Steroid

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi. Metode ini dilakukan dengan proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruang. Pemilihan pelarut berdasarkan sifat kelarutan senyawa aktif yang diambil dalam *Hydrillaverticillata*yaitu dengan prinsip *like dissolves like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Lenny, 2006). Penelitian ini senyawa aktif yang akan diambil dari sampel yaitu berupa steroid. Secara teori steroid merupakan senyawa yang bersifat non polar, sehingga pemilihan pelarut yang digunakan yaitu n-heksana dan petroleum eter yang juga memiliki sifat non polar (Sarker & Nahar, 2009).

Maserasi *Hydrillaverticillata*dilakukan dengan cara merendam sampel sebanyak 50 gram ke dalam pelarutnya yaitu n-heksana dan petroleum eter dengan perbandingan sampel dan pelarut adalah 1 :5.Selama proses perendaman dilakukan pengadukan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm dengan tujuan untuk memaksimalkan kontak antara sampel dengan pelarut sehingga mempercepat proses ekstraksi. Proses maserasi tidak dapat dilakukan hanya sekali

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

perendaman karena dimungkinkan masih ada senyawa metabolit yang tertinggal, maka perlu dilakukan remaserasi (Atun,2014). Remaserasi dilakukan hingga 5 kali. Remaserasi 3 kali pengulangan filtrat yang didapat masih berwarna hijau, dimungkinkan masih terdapat senyawa-senyawa aktif dalam residu, sedangkan setelah 5 kali pengulangan filtrat yang didapat berwarna hijau pudar, dimungkinkan senyawa yang terkandung dalam *Hydrillaverticillata* sudah terekstrak.

Filtrat hasil maserasi dikumpulkan menjadi satu untuk dipekatkan menggunakan *rotary evaporatorvacum* hingga diperoleh ekstrak pekat *Hydrillaverticillata*. Hasil rendemen dari masing-masing ekstrak ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak n-heksana dan petroleum eter

Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak Pekat	Rendemen (%)
n-heksana	Coklat bening	Coklat pekat	1,59
Petroleum eter	Coklat bening	Coklat pekat	0,95

Berdasarkan penelitian dari Hafiz (2017) yaitu hasil rendemen ekstrak n-heksana *Hydrillaverticillata*sebesar 3,80 %, sedangkan pada penelitian Hasanah (2017) hasil rendemen ekstrak petroleum eter*Hydrillaverticillata*sebesar 2,14 %. Hal ini menunjukkan bahwa hasil rendemen pada penelitian ini diperoleh lebih rendah. Hasil rendemen yang diperoleh lebih rendah dimungkinkan karena hasil kadar air dari *Hydrillaverticillata.* Berdasarkan hasil kadar air *Hydrillaverticillata*pada penelitian ini kadar airnya lebih tinggi yaitu 9,16 %, sedangkan pada penelitian dari Hafiz dan Hasanah (2017) yaitu sebesar 8,21 %.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil rendemen antara pelarut n-heksana dan petroleum eter memiliki nilai yang berbeda, dimana rendemen pelarut n-heksana lebih besar dibandingkan dengan pelarut petroleum eter. Berdasarkan sifat kelarutan pelarut, petroleum eter memiliki sifat lebih non polar dibandingkan dengan n-heksana. Hal ini juga menunjukan bahwa senyawa aktif pada *Hydrillaverticillata* memiliki sifat lebih kearah polar.

Proses ekstraksi merupakan proses untuk mengambil senyawa aktif atau zat yang ada dalam suatu bahan atau sampel. Pengambilan zat aktif pada sampel dilakukan untuk memanfaatkan dari potensi zat itu sendiri. Hal ini menunjukkan bahwa memanfaatkan atau mengambil salah satu potensi dari ciptaan Allah dengan cara dan tujuan yang baik, sesuai dengan surat al-Baqarah ayat 168.

يَاَيُّهَاالنَّاسُ كُلُوْا مِمَّا فِى الْاَرْضِ حَلَلًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوْ خُطُوتِ الشَّيْطَنِ اِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُّبِيْنٌ

Artinya : *"Hai sekalian manusia, makanlah yang* ***halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi,*** *dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan, karena sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu". (al-Baqarah/2 :168).*

Kata "makanlah" secara luas memiliki arti mengonsumsi atau menggunakan, kata "di bumi" menunjukkan semua barang yang ada di muka bumi, sifatnya tidak hanya barang yang bisa dimakan tetapi barang yang juga bisa dinikmati. Barang tersebut harus halal dan baik, baik dari segi sifat barangnya secara syariat islam maupun dari segi pengambilannya, serta thayyibah adalah sesuatu yang tidak membahayakan bagi tubuh dan akal manusia, sebagai karunia Allah melarang mengikuti jejak setan yang tidak baik atau haram (Katsir, 2004). Pengambilaan zat aktif pada *Hydrilla verticillata* dengan ekstrasi ini merupakan proses pengambilan dengan cara yang baik dan hasilnya juga dimanfaatkan untuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

suatu hal yang baik, sehingga menjadikan manusia untuk bersyukur dan mempelajari segala ciptaan Allah.

4.4 Uji Fitokimia Steroid

Uji fitokimia steroid yaitu dengan menggunakan reagen Lieberman-Burchard. Reagen ini merupakan campuran dari asam asetat anhidrat, H_2SO_4, dan kloroform. Terbentuknya warna hijau pada larutan menunjukkan adanya steroid (Robinson, 1995).Perubahan warna tersebut dikarenakan terjadinya oksidasi pada golongan senyawa steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Setyowati, dkk., 2014).Hasil uji Fitokimia pada penelitian ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak mengandung steroid.

4.5 Pemisahan Senyawa Steroid dengan KLTA

Pemisahan KLTA ini bertujuan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa variasi eluen yang baik dalam pemisahan senyawa steroid. Eluen yang baik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainya jelas (Harborne, 1987).

Pemisahan senyawa steroid dari ekstrak kasar *Hydrilla verticillata* dilakukan dengan menggunakan plat silika gel GF_{254}ukuran 1 × 10 cm sebagai fase diamnya. Adapun untuk fase geraknya menggunakan beberapa variasi perbandingan antara pelarut n-heksana dan etil asetat. Plat yang digunakan sebelumnya diaktivasi terlebih dahulu dengan memanaskannya di dalam oven dalam suhu 60-100 °C selama ± 15 menit, yang bertujuan untuk menghilangkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kadar air yang terdapat pada plat (Sastrohamidjojo, 2007). Ekstrak *Hydrilla verticillata* yang sudah dilarutkan dalam konsentrasi 1000 ppm ditotolkan dengan 10 totolan. Eluen yang akan digunakan sebelumnya dilakukan penjenuhan selama 1 jam. Hal ini agar campuran eluen dapat tercampur sempurna dan dapat mengelusi ekstrak dengan baik. Adapaun eluen yang digunakan adalah perbandingan pelarut n-heksana dan etil aesetat. Kedua pelarut ini merupakan eluen universal yang paling banyak direkomendasikan sebagai eluen kromatografi karena mudah diuapkan dan mudah diatur kepolarannya, serta dalam pemilihan eluen sebaiknya dengan pelarut yang non polar seperti n-heksana kemudian ditingkatkan kepolarannya dengan pelarut polar yaitu etil asetat (Harborne, 1987).

Elusi dihentikan ketika eluen mencapai garis batas atas. Plat selanjutnya diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Hasil noda yang terbentuk ditandai dengan pensil. Perbandingan eluen yang memiliki spot noda yang bagus dipilih dan akan digunakan sebagai hasil eluen terbaik. Adapun Hasil penampakkan noda dari KLTA dari variasi perbandingan eluen ditunjukkan pada Tabel 4.2.

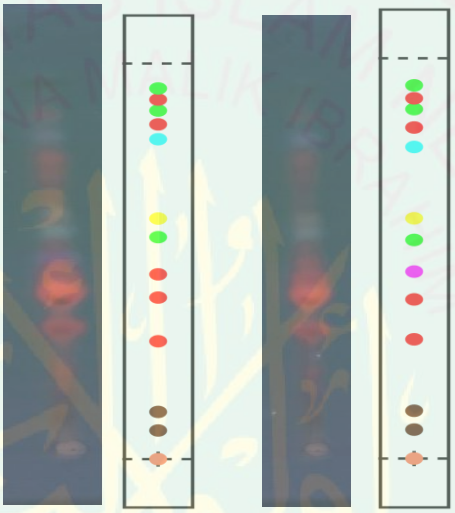
Tabel 4.2 Jumlah noda yang terbentuk pada KLTA

Variasi eluen (n-heksana: etil asetat)	Jumlah spot atau noda pada 366 nm	
	Ekstrak n-heksana	Ekstrak petroleum eter
19 : 1	9	9
18 : 2	9	9
17 : 3	9	8
16 : 4	9	9
15 : 5	13	13

Hasil spot yang terbentuk dari berbagai variasi perbandingan eluen tersebut, menunjukkan bahwa pada perbandingan 15:5 menghasilkan pemisahan senyawa

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

steroid yang terbaik dari pada perbandingan eluen yang lainya. Hal ini dilihat dari hasil spot yang terbentuk seperti pada Gambar 4.1. Noda yang diduga steroid pada berbandingan eluen 15:5 memiliki noda yang lebih banyak dan jarak yang jelas dan tidak ada ekor pada noda yang terbentuk. Adapun spot yang memiliki nilai Rf yang tinggi menunjukkan terdistribusi ke fase geraknya bersifat lebih non polar, sedangkan Rf yang memiliki nilai rendah menunjukkan terdistribusi ke fase diam (silika) bersifat polar.



(a) (a*) (b) (b*)

keterangan (a) : Ekstrak n-heksana
(a*) : Ilustrasi gambar (a)
(b) : Ekstrak petroleum eter
(b*) : Ilustrasi gambar (b)

Gambar 4.1 Pemisahan senyawa steroid hasil KLTA dengan eluen n-heksana dan etil asetat (15:5)

4.6 Pemisahan Senyawa Steroid dengan KLTP

Eluen yang memberikan hasil pemisahan senyawa steroid yang terbaik dari KLTA yaitu eluen dengan perbandingan 15:5. Eluen tersebut yang digunakan sebagai pemisahan senyawa steroid dengan KLTP. Metode ini bertujuan untuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

memisahkan senyawa steroid dengan senyawa lainnya yang ada dalam ekstrak berdasarkan spot yang terbentuk, sehingga dapat diambil senyawa steroidnya saja. Pemisahan KLTP menggunakan plat silika gel GF_{254} berukuran 10 × 20 cm, dan sampel ekstrak yang ditotolkan sebanyak 1000 ppm dengan 15 totolan. Hasil pemisahan senyawa steroid dengan KLTP dari kedua ekstrak n-heksana dan petroleum eter ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil pemisahan senyawa steroid dengan KLTP

No	Warna Ekstrak n-heksana					Warna Ekstrak Petroleum eter				
	Rf	Setelah Elusi		Setelah disemprot Liebermann-Burchard		Rf	Setelah Elusi		Setelah disemprot Liebermann-Burchard	
		Visual	UV 366 nm	Visual	UV 366 nm		Visual	UV 366 nm	Visual	UV 366 nm
1	0,01	O	O	K	O	0,01	O	O	Ht	O
2	0,16	P	Ct	P	Ct	0,14	P	Ct	P	Ct
3	0,19	P	Ct	P	Ct	0,21	K	Ht	P	Ht
4	0,27	P	M	Hg	M	0,28	K	M	P	M
5	0,41	K	M	K	M	0,42	P	M	Hj	M
6	0,50	P	M	P	M	0,52	K	M	P	M
7	0,54	P	Ht	P	Ht	0,57	P	Ht	P	Ht
8	0,58	P	M	K	M	0,60	Hj	M	Hg	M
9	0,63	Hj	M	Hg	M	0,62	Hj	U	Hg	U
10	**0,69**	**Hj**	**Hj**	**Hj**	**Hj**	0,66	P	M	P	M
11	0,74	P	K	Hj	K	**0,71**	**P**	**Hj**	**Hj**	**Hj**
12	0.75	K	M	K	M	0.79	P	K	P	K
13	**0,88**	**P**	**B**	**Hj**	**B**	0,90	P	M	Hj	M
14	0,92	K	M	Hj	M	0,94	K	O	P	O
15	**0,93**	**K**	**Ht**	**Hj**	**Ht**	**0,96**	**P**	**Ht**	**Hj**	**Ht**
16	**0,95**	**K**	**Hj**	**Hj**	**Hj**					

K: kuning, P: putih, Hj: Hijau, Ht: hitam, O: oranye, C: coklat, Ct: coklat tua, U: ungu, Hg: hijau gelap, M: merah, B: biru.

Noda yang terbentuk sebanyak 16 noda pada ekstrak n-heksana dan 15 noda pada ekstrak petroleum eter. Noda ke 10, 13, 15 dan 16 pada ekstrak n-heksana dan noda ke 11, dan 15 pada ekstrak petroleum eter yang akan dikerok untuk uji selanjutnya. Noda-noda tersebut diduga merupakan senyawa steroid, dengan didasarkan pada banyaknya kesesuaian perubahan warna noda pada masing-

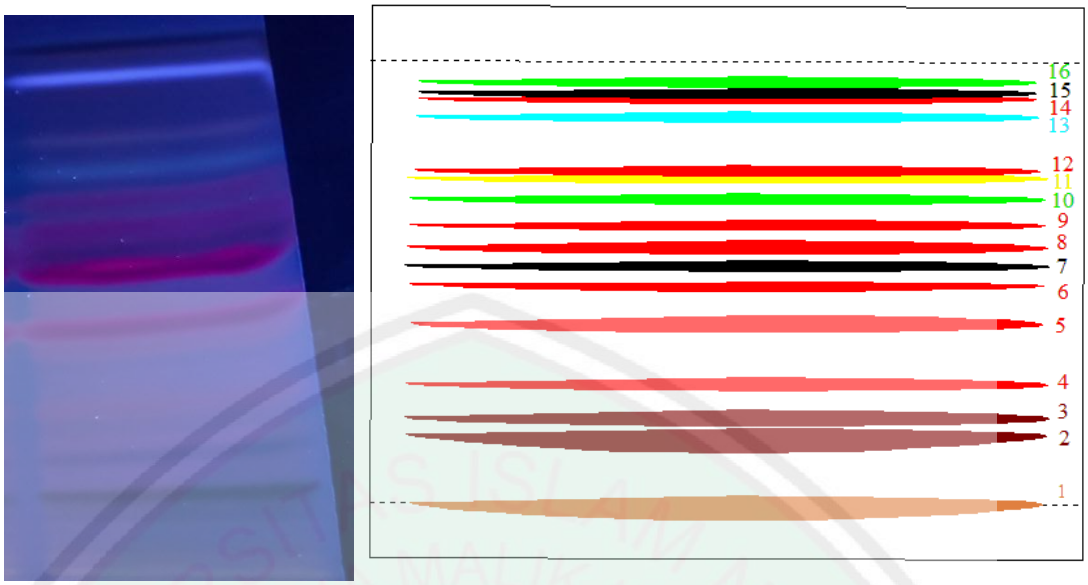
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

masing cara pengamatan yang menunjukkan warna hijau dan biru. Proses pengamatan noda senyawa steroid adalah dengan beberapa cara yaitu, secara langsung (Suhaenah dan Nuryanti, 2017), dibawah lampu UV 366 nm (Hidayah, dkk., 2016), dengan hasil uji positif ditandai dengan terbentukya warna hijau dan biru pada noda yang terduga steroid.

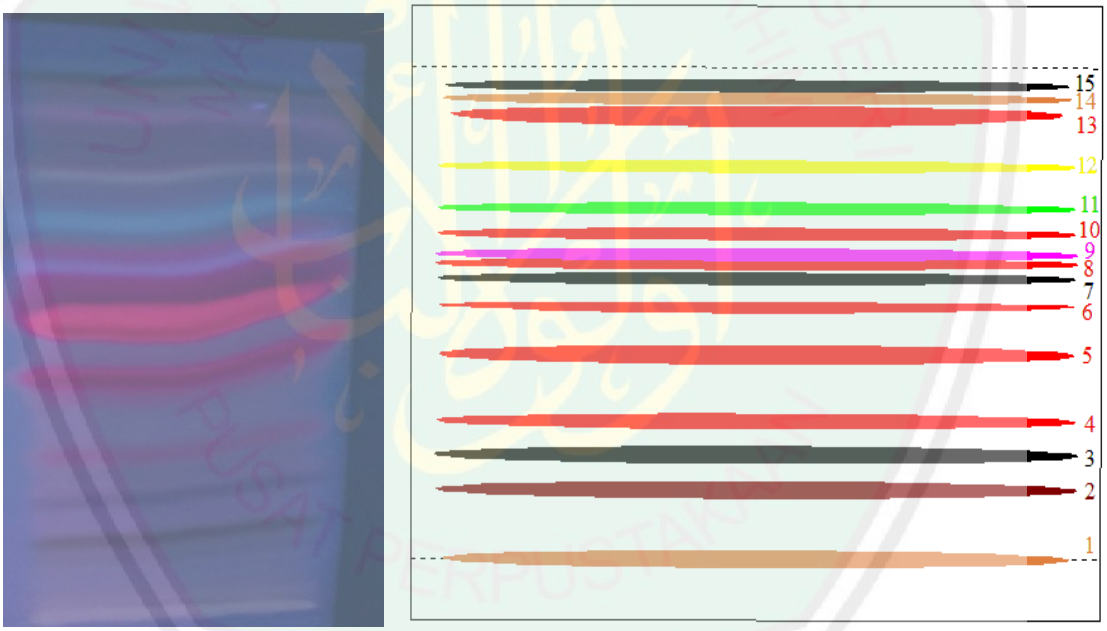
Nilai Rf dari tiap-tiap noda steroid ekstrak n-heksana yaitu 0,69, 0,88, 0,93, dan 0,95. Nilai Rf dari tiap-tiap noda steroid ekstrak n-petroleum eter yaitu 0,71, dan 0,96. Hal tersebut didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2016) yaitu pemisahan senyawa steroid dengan KLTP dari fraksi Petroleum eter Mikroalga *Chlorella sp*. menunjukkan adanya senyawa streroid pada nilai Rf 0,77 dengan warna hijau kebiruan. Steroid juga terdapat pada nilai Rf 0,83 dengan warna hijau kebiruan yang telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya yaitu identifikasi senyawa steroid pada tanaman anting-anting menggunakan KLTP (Hayati, 2012), selain itu noda-noda tersebut memiliki nilai Rf yang hampir sama dengan noda yangterduga steroid pada plat KLTA.

Hasil pemisahan senyawa steroid juga ditunjukkan pada Gambar 4.2. Warna yang dihasilkan jelas dan memiliki jarak dengan noda lainya sehingga mudah untuk dikerok. Hasil noda yang terduga steroid dikumpulkan, kemudian dilarutkan dengan pelarutnya dan diuapkan, disebut sebagai isolat. KLTP ini dilakukan sampai beberapa kali untuk mendapatkan isolat steroid yang lebih banyak. Hasil isolat steroid yang diperoleh berebentuk jarum-jarum bening.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



(a) (a*)



(b) (b*)

keterangan (a) : Ekstrak n-heksana
(a*): Ilustrasi gambar (a)
(b) : Ekstrak petroleum eter
(b*): Ilustrasi gambar (b)

Gambar 4.2 Pemisahan senyawa steroid hasil KLTP dibawah lampu UV 366 nm

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil spot noda pada pemisahan senyawa aktif steroid dengan KLTP dari ekstrak *Hydrilla verticillata* menunjukkan bahwa segala ciptaan Allah baik dari hal yang besar maupun hal sekecil pun itu beragam atau tidak sama dan teratur dengan seimbang serta tidak cacat. Hal ini sesuai dengan yang tersirat dalam al-Quran surat al-Mulk ayat 3 dan 4.

اَلَّذِى خَلَقَ سَبْعَ سَمٰوٰتٍ طِبَاقًا مَّا تَرٰى فِى خَلْقِ الرَّحْمٰنِ مِنْ تَفٰوُتٍ فَارْ جِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرٰى مِنْ فُطُورٍ

{٣} ثُمَّ ارْجِعِ الْبَصَرَ كَرَّتَيْنِ يَنْقَلِبْ اِلَيْكَ الْبَصَرُ خَاسِئًا وَّهُوَ حَسِيْرٌ {٤}

Artinya : "*Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali* ***tidak melihat*** *pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah* ***sesuatu yang tidak seimbang.*** *Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?. Kemudian pandanglah sekali lagi niscaya penglihatanmu akan kembali kepadamu dengan* ***tidak menemukan sesuatu cacat*** *dan penglihatanmu itupun dalam keadaan payah". (al-Mulk/29 : 3 dan 4).*

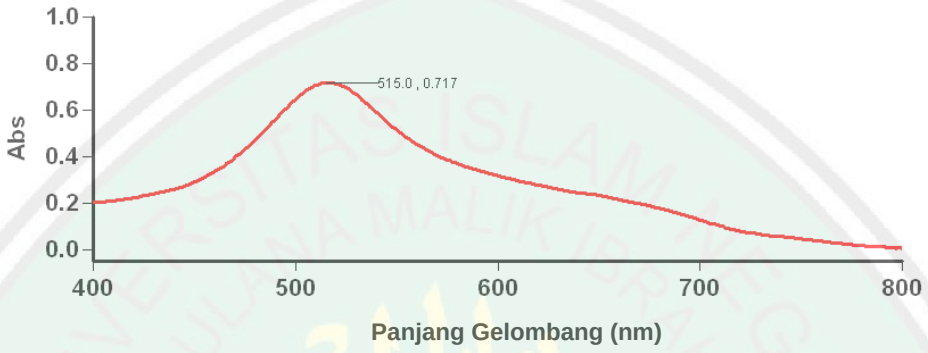
Berdasarkan tafsir Muyasasar ayat di atas menjelaskan bahwa Allah menciptakan langit tanpa adanya tiang-tiang yang menyangga, tanpa ikatan yang mengikatnya. Tidak akan ditemukannya ketidakseimbangan maupun kontradiksi pada ciptaan Allah. Semua Allah ciptakan dengan sempurna hanya untuk makhluknya dimana sifat Allah yang ar-Rahman. Allah juga menciptakan segala sesuatunya tidak lepas dari hukum-hukum serta peraturan sehingga semuanya menjadi rapi dan seimbang (Al-Qarni, 2007). Segala ciptaan allah termasuk senyawa aktiv yang terkandung dalam *Hydrilla verticillata* yang dapat dilihat didalam input hasil pemisahan KLTP berupa spot nodanya, bahwa allah menciptakan segala sesuatunya dengan rapi dan seimbang serta beragam, sehingga sebagai salah satu makhluk ciptaanya harus kagum dan bersyukur atas kebesarannya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.7 Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH

4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,20 mM ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Panjang gelombang maksimum larutan DPPH

Pengukuran panjang gelombang maksimum digunakan sebagai acuan panjang gelombang ketika pengukuran aktivitas antioksidan. Tujuan dilakukanya pengukuran panjang gelombang maksimum untuk mendapatkan hasil absorbansi yang akurat. Hal ini karena pengukuran absorbansi sampel yang dilakukan pada panjang gelombang maksimum memiliki kepekaan yang tinggi (Rohman, 2007), sehingga kemungkinan kesalahan yang terjadi akan semakin kecil, dan karena pada pengukuran absorbansi sampel yang diukur sebenarnya adalah absorbansi DPPH sisa yang tidak diredam oleh senyawa aktif antioksidan yang berupa steroid.

Gambar 4.3 menunjukkan hasil panjang gelombang maksimum terhadap larutan DPPH 0,20 mM adalah 515 nm. Hasil ini sesuai dengan literatur dari Prakash, dkk., (2001) yang menunjukkan bahwa DPPH memiliki absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm. DPPH juga memiliki warna

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

komplementer ungu karena memiliki elektron yang tidak berpasangan (Kuntorini, 2010).

4.7.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan pada masing-masing isolat steroid hasil KLTP ekstrak n-heksana dan ekstrak petroleum eter. Penggunaan variasi konsentrasi 1,2,3,4, dan 5 ppm yang diukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm. Pengukuran aktivitas antioksidan pada isolat ini menggunakan larutan kontrol 0,20 mM, dimana pembuatan larutan DPPH selalu dalam keadaan baru (*fresh*) untuk menghindari terjadinya perubahan nilai yang signifikan.

Absorbansi kontrol dan absorbansi isolat yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menentukan persen (%) aktivitas antioksidan. Persen aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas (dalam bentuk %). Persen aktivitas antioksidan menunjukkan banyaknya atom hidrogen dari senyawa antioskidan yang menangkap radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (Rahayu, dkk., 2010). Hasil pengukuran aktivitas antioksidan yang dilakukan tidak memberikan perubahan warna kuning akan tetapi memberikan gradasi warna ungu muda (memudar).

Hasil data persen aktivitas antioksidan digunakan untuk menghitung EC_{50} yang merupakan parameter utama pada pengukuran aktivitas antioksidan. Nilai EC_{50} masing-masing isolat diperoleh melalui hasil analisis menggunakan persamaan regresi non linier dengan *GraphPad prism7 software, Regression for analizing doseresponse data*. EC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50 %. Semakan kecil nilai EC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Data nilai EC_{50} ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Nilai EC_{50} Isolat steroid *Hydrilla verticillata*

Ekstrak n-heksana		Ekstrak petroleum eter	
Isolat steroid	EC_{50}(ppm)	Isolat steroid	EC_{50}(ppm)
10	2975	11	48,56
13	3413	15	501,50
15	-		
16	56,49		

Berdasarkan Tabel 4.4 menunjukkan bahwa nilai EC_{50} dari isolat steroid ekstrak n-heksana dan petroleum eter memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda-beda. Berdasarkan nilai EC_{50} spot noda 16 pada isolat steroid ekstrak n-heksana dan noda 11 pada isolat steroid ekstrak petroleum eter, memiliki nilai EC_{50} sebesar 56,49 ppm dan 48,56 ppm yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang tinggi. Hasil isolat steroid dari noda yang lainnya memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong lemah. Aktivitas antioksidan yang lemah dikarenakan isolat kurang murni, masih banyak senyawa lain yang diduga berkerja secara antagonis sehingga menyebabkan penurunan aktivitas senyawa lainya, sedangkan pada noda yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi disebabkan isolat lebih murni steroid. Berdasarkan penelitian Rahmawati (2016) uji aktivitas antioksidan senyawa steroid isolat hasil KLTP fraksi petroleum eter Mikroalga *Chlorella sp*. dengan nilai EC_{50} pada isolat senyawa steroid sebesar 73,82 ppm sedangkan fraksinya memiliki nilai EC_{50} sebsar 152,30 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat steroid yang murni memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dari pada yang berupa fraksi atau kurang murni.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Aktivitas antioksidan isolat steroid noda 11 ekstrak petroleum eter lebih kuat jika dibandingkan dengan isolat steroid noda 16 ekstrak n-heksana, dimana yang memiliki nilai EC_{50}nya lebih rendah. Hasil dari kedua isolat steroid *Hydrilla verticillata* jika dibandingkan dengan nilai aktivitas antioksidan vitamin C dan Butil Hidroksi Toluena (BHT), memiliki nilai aktivitas antioksidan yang lebih lemah. Adapun nilai EC_{50} pada vitamin C dan BHT sebesar 3,57 dan 6,55 ppm (Bariyyah, 2013). Berdasarkan hasil data pada Tabel 4.5 yang tergolong sebagai antioksidan kuat yaitu isolat steroid noda 16 ekstrak n-heksana, isolat steroid noda 11 ekstrak petroleum eter, vitamin C dan BHT, sedangkan isolat steroid noda yang lainya tergolong lemah. Berikut adalah penggolongan tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH berdasarkan nilai EC_{50}/IC_{50} yang ditunjukkan pada Tabel 4.5 (Putra, 2012).

Tabel 4.5 Tingkat kekuatan antioksidan

Itensitas	Nilai EC_{50}/IC_{50} (ppm)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	>150

Kandungan senyawa steroid dalam *Hydrilla verticillata* telah dibuktikan dalam penelitian ini memiliki fungsi sebagai antioksidan yang tinggi, dimana berguna sebagai obat. Penggunaan *Hydrilla verticillata*sebagai obat merupakan salah satu bentuk jalan untuk mendapatkan kesembuhan dari Allah SWT, karena segala bentuk penyakit pasti ada obatnya. Seperti hadits yang diriwayatkan oleh Imam Bukhari di dalam shahihnya, dari sahabat Abu Hurairah bahwasanya Nabi bersabda:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

عَنْ اَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللهُ عَنْهُ عَنْ النَّبِيِّ صَلىَّ اللهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ : مَااَنْزَلَ اللهُ دَاءً اِلَّا اَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً.

رَوَاهُ بُوخَرِي

Diriwayatkan dari Abu Hurairah r.a bahwa Nabi SAW. pernah bersabda "Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit melainkan Allah turunkan pula obatnya" (HR. Al-Bukhari)

Dan dari riwayat Imam Muslim dari Jabir bin Abdillah dia berkata bahwa Nabi bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَإِذَا أَصَيْبَ دَوَاءَ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللهِ عَزَّوَجَلَّ {اخرجه مسلم}

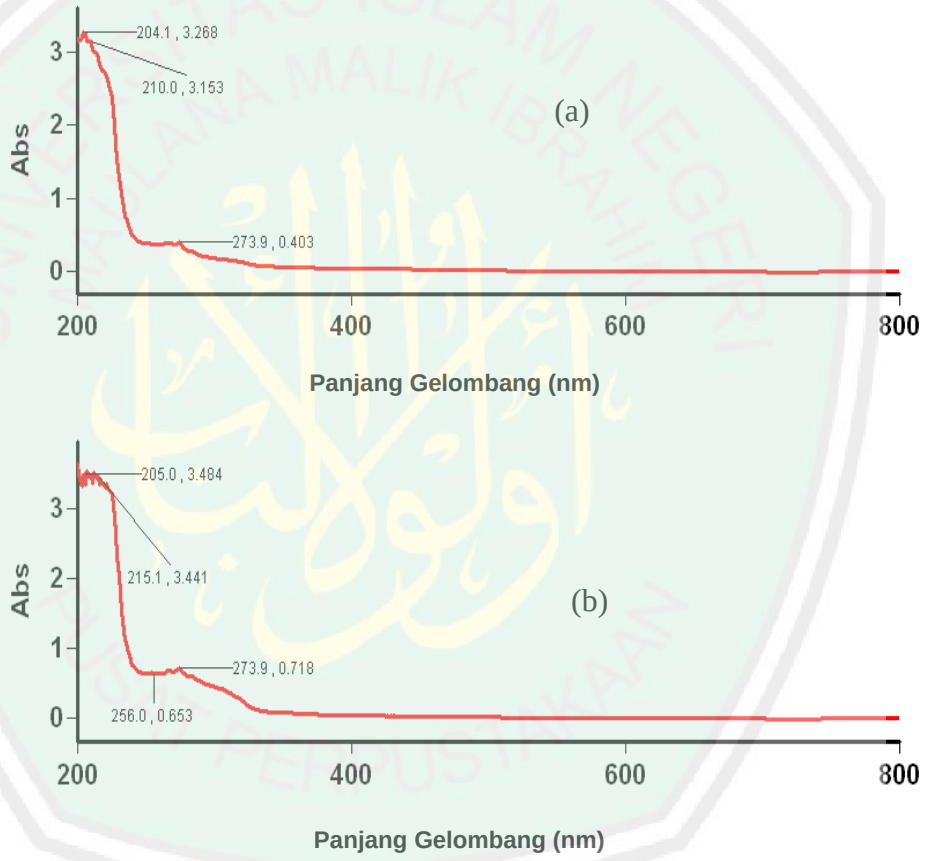
"Setiap penyakit ada obatnya, bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah SWT" (HR. Muslim).

Pencarian obat dari bermacam-macam penyakit dapat ditemukan dari ilmu pengetahuan, dan dari menyadari akan kebesaran Allah SWT yang telah menciptakan tanam-tanaman, salah satunya *Hydrilla verticillata*dengan kandungan senyawa steroid didalamnya yang dapat dimanfaatkan sebagai obat.Hasil penelitian ini menunjukkan adanya bioaktivitas sebagai antioksidan dari senyawa steroid pada tanaman *Hydrilla verticillata*dengannilai EC_{50}sebesar56,49 ppm dan 48,56 ppm. Kekuasaan Allah yang begitu besar menjadikan manusia untuk selalu bersyukur dan menjaga dengan baik alam disekitarnya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.8 Identifikasi Steroid Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Isolat steroid dari ekstrak n-heksana dan petroleum eter yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat diidentifikasi dengan spektroskopi UV-Vis yaitu pada isolat 16 untuk ekstrak n-heksana, dan isolat 11 pada ekstrak petroleum eter. Hal ini dilakukan untuk melihat serapan maksimum masing-masing isolat dan untuk memperkuat dugaan dari uji fitokimia. Hasil spektrum UV-Vis pada kedua isolat steroid tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Panjang gelombang maksimum isolat steroid pada ekstrak (a) n-heksana, (b) petroleum eter

Berdasarkan hasil UV-Vis isolat 16 dari ekstrak n-heksana mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 204, 210, dan 274 nm dengan nilai absorbansi masing-masing 3,26, 3,15, dan 0,40. Isolat 11 dari ekstrak petroleum eter memiliki serapan 205, 215, 256, dan 274 nm, dengan nilai absorbansi masing-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

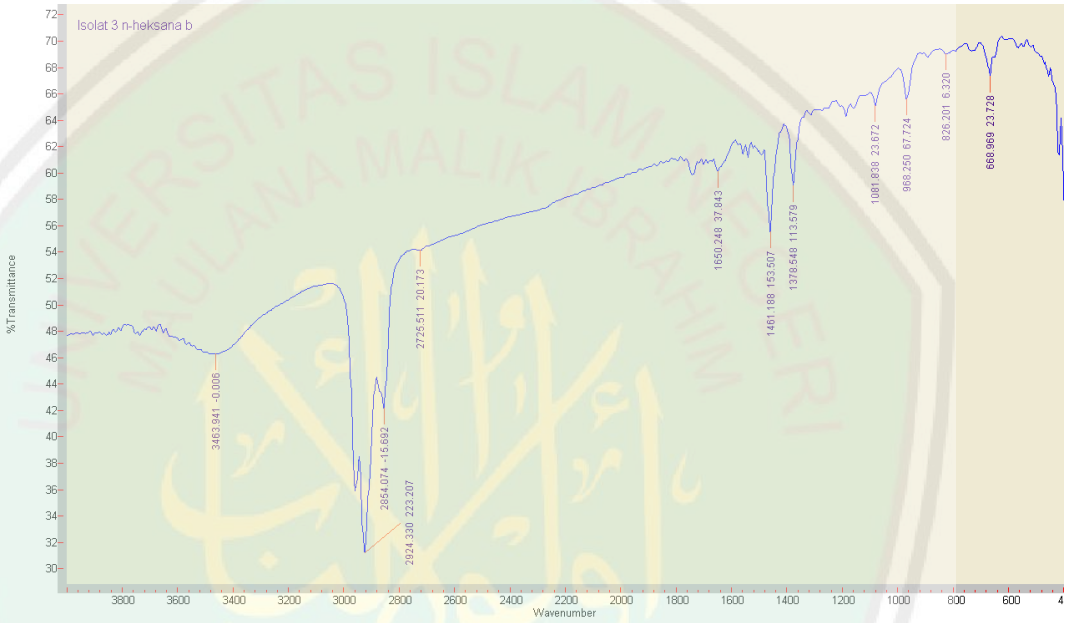
masing 3,48, 3,44, 0,65 dan 0,71. Panjang gelombang 204 dan 205 nm menunjukkan serapan senyawa β-Sitosterol, dimana pola spektra mempunyai kemiripan dengan penelitian Aprelia dan Suyatno (2013) yang melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan paku *Christella arida* pada panjang gelombang 203 nm.

Panjang gelombang 210 dan 2015 nm menunjukkan serapan dari salah satu jenis senyawa steroid yaitu digitoksigenin dimana pola spektra mempunyai kemiripan dengan penelitian Rahmawati dan Hidajati (2017) yang melakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol kulit batang tumbuhan mengkudu pada panjang gelombang 214 nm. Pada serapan 256 nm merupakan serapan senyawa steroid jenis stigmasterol dimana pada penelitian Jain dan Bari (2010) mengisolasi stigmasterol dari ekstrak petroleum eter batang kayu *Wrightia tinctoria* pada panjang gelombang 257 nm. Senyawa yang memiliki serapan 274 nm merupakan senyawa poriferasta-3,5-dien-7-one. Hal ini didasarkan pada penelitian Dast dan Srinivast (1992) mengidentifikasi senyawa steroid dari alga merah *Gracilaria edulis* menghasilkan serapan 278 nm yang menunjukkan senyawa tersebut. Serapan pada daerah 200-400 nm menunjukkan adanya trasnsisii $\pi \rightarrow \pi^*$. Kromofor yang menyebabkan terjadinya transisi ini adalah senyawa organik tidak jenuh (mempunyai orbital molekul π seperti C=C tidak berkonjugasi (Sudjadi, 2014). Adapun pelarut juga dapat mempengaruhi serapan UV, yaitu dengan adanya pergeseran panjang gelombang (Rohman, 2007).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.9 Identifikasi Steroid Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi dengan menggunakan FTIR untuk memperkuat hasil dari uji identifikasi sebelumnya yaitu dengan menentukan gugus fungsi dari isolat 16 dari ekstrak n-heksana dan isolat 11 dari petroleum eter. Spektrum inframerah dari kedua isolat tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.5 dan 4.6 sedangkan interpretasinya dapat dilihat pada Tabel 4.6 dan 4.7.



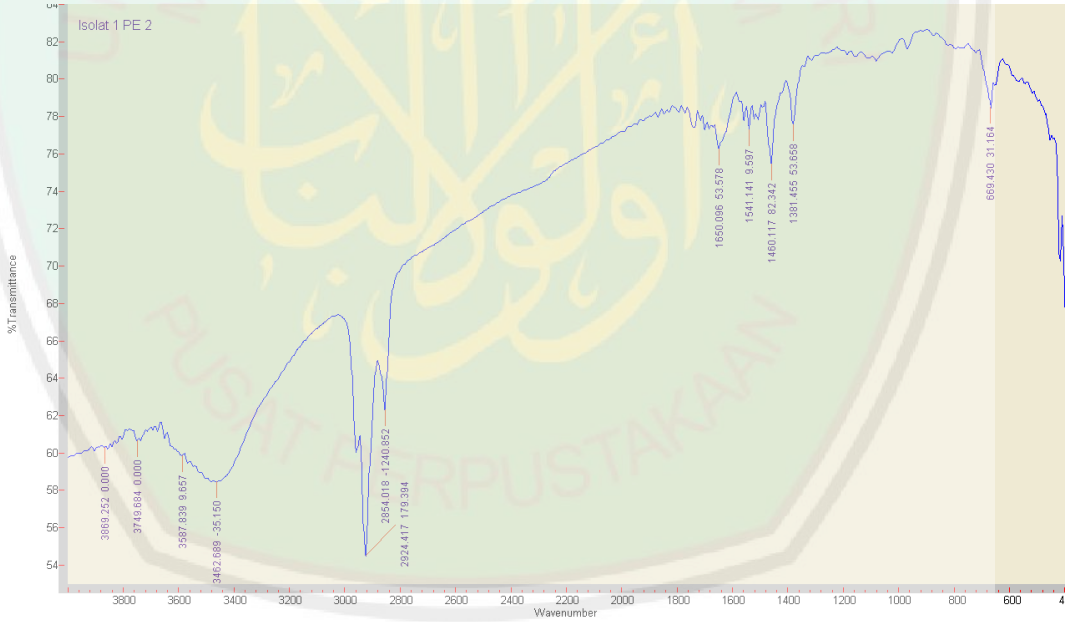
Gambar 4.5 Spektra FTIR isolat 16 ekstrak n-heksana

Tabel 4.6 Interpretasi spektrum inframerah isolat 16 ekstrak n-heksana

Bilangan gelombang (ν, cm^{-1})	Range Pustaka (Socrates, 1994)	Intensitas Refrensi	Penempatan gugus terkait
3463,94	3600-3450	Lebar	O-H *stretch*
2924,33	2940-2914	Tajam	$-CH_2-$ *stretch asy*
2854,07	2870-2840	Sedang	$-CH_2-$ *stretch sym*
1650,24	1680-1620	Sedang	C=C *stretch*
1461,18	1480-1440	Tajam	$-CH_2$*bend (scissoring)*
1378,54	1395-1365	Tajam	$-CH(CH_3)_2$*stretch*
1081,83	1100-1050	Sedang	C-O alkohol sekunder
968,25			
826,20	995-650	Sedang	=C-H siklik *bend*
668,96			

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berdasarkan Gambar 4.5 dan Tabel 4.6 menunjukkan bahwaisolat 16 ekstrak n-heksanamemiliki serapan melebar pada 3463,94 cm^{-1} yang diduga adalah serapan ulur (*stretching*) dari gugus hidroksil O-H.Serapan pada 2924,33cm^{-1} merupakan serapan ulur (*stretching*) -CH_2- asimetri, serta terdapat serapan ulur (*stretching*) -CH_2- simetri pada panjang gelombang 2854,07cm^{-1}. Serapan pada 1650,24cm^{-1} menunjukkan adanya uluran (*stretching*) C=C alkena tidak konjugasi (1680-1620 cm^{-1}), dugaan ini diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 968,25, 826,20, 668,96cm^{-1} menunjukan adanya =C-H siklik *bend*. Serapan pada 1461,18cm^{-1} menunjukkan serapan tekuk -CH_2*(scissoring)*, dan pada 1378,54cm^{-1}adalah serapan ulur -$CH(CH_3)_2$. Serapan panjang gelombang 1081,83cm^{-1}menunjukkan C-O alkohol sekunder.



Gambar 4.6 Spektra FTIR isolat 11 ekstrak petroleum eter

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.7 Interpretasi spektrum inframerah isolat 11 ekstrak petroleum eter

Bilangan gelombang (v, cm^{-1})	Range Pustaka (Socrates, 1994)	Intensitas Refrensi	Penempatan gugus terkait
3462,68	3600-3450	Lebar	O-H *stretching*
2924,41	2870-3840	Tajam	$-CH_2-$ *stretch asy*
2854,01	2870-2840	Tajam	$-CH_2-$ *stretch sym*
1650,09	1680-1620	Sedang	C=C *stretch*
1460,11	1480-1440	Tajam	$-CH_2$*bend (scissoring)*
1381,45	1395-1365	Sedang	$-CH(CH_3)_2$*stretch*
669,42	995-650	Sedang	=C-H siklik *bend*

Berdasarkan Gambar 4.6 dan Tabel 4.7 menunjukkan bahwaisolat 11 ekstrak petroleum etermemiliki serapan melebar pada 3462,68 cm^{-1} yang diduga adalah serapan ulur (*stretching*) dari gugus hidroksil O-H. Serapan pada 2924,41cm^{-1} merupakan serapan ulur (*stretching*) $-CH_2-$ asimetri, serta terdapat serapan ulur (*stretching*) $-CH_2-$ simetri pada panjang gelombang 2854,01 cm^{-1}. Serapan pada 1650,09 cm^{-1} menunjukkan adanya uluran (*stretching*) C=C alkena tidak konjugasi (1680-1620 cm^{-1}), dugaan ini diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 669,42 cm^{-1} menunjukan adanya =C-H siklik *bend*. Serapan pada 1460,11 cm^{-1} menunjukkan serapan tekuk $-CH_2$*(scissoring)*, dan pada 1381,45 cm^{-1}adalah serapan ulur $-CH(CH_3)_2$.

Hasil spektrum inframerah dari kedua isolat steroid menunjukkan memiliki gugus fungsi yang hampir sama. Adapun gugus fungsinya yaitu O-H, C=C, C=O, $-CH_3$ dan $–CH_2$. Hal ini dapat diasumsikan bahwa senyawa yang ada pada kedua isolat hampir sama.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka kesimpulan yang didapat yaitu:

1. Hasil pemisahan senyawa steroid ekstrak n-heksana dan petroleum eter *Hydrilla verticillata* dengan menggunkan KLTP diperoleh dengan jumlah noda 16 dan 15, dengan diperoleh 4 noda yang diduga steroid pada ekstrak n-heksana dan 2 noda yang diduga steroid pada ekstrak petroleum eter. Nilai Rf masing-masing noda 0,69, 0,88, 0,93, dan 0,95 pada ekstrak n-heksana dan 0,71, dan 0,96 pada ekstrak petroleum eter.
2. Aktivitas antioksidan isolat senyawa steroid hasil pemisahan menggunakan KLTP pada ekstrak n-heksana dan petroleum eter *Hydrilla verticillata* memiliki nilai EC_{50}sebesar 56,49 ppm dan 48,56 ppm yang tergolong antioksidan kuat.

5.2 Saran

Proses ekstraksi *Hydrilla verticillata* sebaiknya terlebih dahulu menggunakan pelarut yang polar, supaya mendapatkan hasil rendemen yang lebih banyak, kemudian dipisahkan dengan hidrolisis menggunakan pelarut non polar, serta dalam pengamatan hasil KLTP dilakukan dengan banyak metode yang ada sehingga didapatkan spot yang benar-benar steroid.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Al-Jazairi, S.A.B.J. 2009. *Tafsir Al-Quran Al-Aisar Jilid 6*. Terjemahan oleh Fityan, A dan Edi, S. Jakarta Timur: Darus Sunnah Press.

Al-Qarni, Dr. A. 2007. *Tafsir Muyassar*. Terjemahan oleh Tim Qisthi Press. Jakarta: Qisthi Press.

Al-Quais, K. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana dan Identifikasi Senyawa Steroid Akar Rumput Bambu (*Lophaterum gracile Brongn*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Annie,S.W., Raveen, R., Paulraj, M.G., Samuel, T., & Arivoli, S. 2016. Screening of *Hydrilla verticillata* (L. F.) Royle (Hydrocharitaceae) crude leaf extracts for larvicidal efficacy against the filarial vector *Culex quinquefasciatus* say (Diptera: Culicidae). *International Journal of Entomology Research*. 1(3): 43-48

AOAC. 1984. *Official methods of analysis. 11th edition*. Association of Official Analitical Chemists Inc., Washington, D.C

Aprelia, F dan Suyatno. 2013. Senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat tumbuhan paku *Cristella arida* dan uji pendahuluan sebagai antikanker. *Journal of Chemistry*. 2 (3): 94-99

Arindah, D. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (*Solonum Muricatum aiton)* yang Berpotensi sebagai Antioksidan. *Sekripsi*. Diterbitkan Malang: Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

As Suyuthi, J dan Jaluddin A.*Tafsir Jalalain*. Tafsir oleh Najib, J. Surabaya: PT. eLBA Fitrah Mandiri Sejahtera.

Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur. Volume 8, Nomor 2. 53-61*.

Azizah, L. N. 2016. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil KLTP Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah. *Skripsi*. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Baraja, M. 2008. Uji toksisitas ekstrak daun *Ficus elastica* Noisex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan profil kromatografi lapis tips. *Skripsi*. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Bariyyah, S.K. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap Dpph dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chorella Sp*. Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge. *Skrips*i. Malang: Uin Malang.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Byju, K., Anuradha, V., Rosmine, E., Kumar, N. C., dan Nair, S. M. 2013. Chemical characterization of the lipophilic extract of Hydrilla verticillata: A widely spread aquatic weed. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 22(3), 304-311*.

Christopher, D.K., Cook., dan Ruth, L. 1982. A Revision of The Genus Hydrilla (Hydrocharitaceae). *Aquatic Botany. 13. 485-504.*

Creswell, C.J. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik Edisi 2 Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro*. Bandung: Penerbit ITB.

Darwis, D. 2000. *Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*. Padang: FMIPA Universitas Andalas Padang.

Dast, B., dan Srinivas, K.V.N.S. 1992. Minor C29-Steroid from The Merine Red Algae. *Gracilaria Edulis. Phytochemistry, Vol.31.No7.*

Daud, M.F., Sadiyah, E.R., dan Rismawati, E. 2011. Pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava* L.) berdaging buah putih. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian*. ISSN: 2089-3582.

Day, R.A. dan Underwood, A.L. 1986. *Analisis kimia kuantitatif edisi kelima*. Jakarta: Erlangga.

Dukomalamo, I., Sangi, M. S. dan Rorong, J. A. 2016. Analisis Senyawa Toksik Tepung Pelepah Batang Aren (Arenga Pinnata) dengan Spektroskopi UV-Vis dan Inframerah. *Jurnal MIPA online.* 5 (1). Hal. 54-59.

Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S. 1986. *Kimia Organik Cetaka Ketiga*. Bandung: ITB.

Gritter, R., J., J.M Robbit dan S.E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua Terjemahan Kokasih Padmawinata*. Bandung: ITB.

Hafiz, N.M. 2017. Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform Dan N-Heksana *Hydrilla Verticillata* (L.F) Royle Dari Danau Ranu Kab.Pasuruan Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Hanani, E., Abdul, M., dan Ryany, S. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dan *Spons Callispongia sp*. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Kefarmasian. II (3):127-133.*

Harborne. J.B.1987. *Metode FitokimiaPenuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Terjemahan Kosasih Padmawinta dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hartini, R. S. Dan Suyatno. 2016. *Non Fenolik Dari Ekstrak Diklorometana Batang Tumbuhan Ashitaba (Angelica Keiskei) Identification And Preliminary Testing Anticancer Activity From The Stems Ashitaba (Angelica keiskei) Of Dicloromethane Extract, (September), 81–86.*

Hasanah, F. 2017. Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Etanol, Etil Asetat Dan Petroleum Eter *Hydrilla Verticillata* (L.F) Royle Dari Danau Ranu Kab.Pasuruan Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Hayati, E.k., Akyun, J., dan Rachmawati, N. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria In Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica Linn.*). *Molekul, Vol. 7. No.1. hal: 20-32.*

Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.

Hidayah, W.W., Dewi, K., Enny, F. 2016. Isolasi, Identifikasi Senyawa Steroid dari Daun Getih-Getihan (Rivina humilis L.) dan Uji Aktivitas Sebagai Antibakteri. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi.Vol 19.No 1 Hal 32-37.*

Ikfi, S. 2017. Uji Antioksidan Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform Dan N-Heksana *Hydrilla Verticillata* (L.F) Royle Dari Danau Ranu Kab.Pasuruan Menggunakan Metode Difenil Hidrazil (DPPH). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Ionita, P. 2005. Is DPPH Stable Free Radical A Good Scavenger for Oxygen Active Species?. *Cem. Pap, 59(1): 11.*

Jaelani, S.A.Q. 2011. *Tafsir Al-Jaelani*. Terjemahan oleh Abdul, H. Bekasih: PT. Sahara Intisains.

Jain, P.S., dan Bari, S. B. 2010. Isolation Of Lupeol, Stigmasterol And Campesterol From Petroleum Ether Extract Of Woody Stem Of *Wrightia tinctoria. Asian Journal Of Plat Sciences 9 (3). 163-167.*

Joselin, M. 2014. Karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia serta uji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak etanol hidrilla (*Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle). *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Katsir, I. (2004b). *Tafsir Ibnu Katsir*. Terjemah M. Abdul Ghoffar E.M. Jilid 6. Bogor: Pustaka Imam Syafi'i.

Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press

Komari, N. 2008. Kajian adsorpsi Cu(II) dengan biomassa *Hydrilla.*

Krisna, I.G. 2014. Senyawa Steroid pada Daun Gayam *Inocarpus fagiferus* Fosb) dan Aktivitasnya Sebagai Antioksidan Terhadap Difenil Hidrazil (DPPH). *Jurnal Kimia 8, 251-256.*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kristanti, A.N., Aminah, S.N., Tanjung, M., & Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia.* Surabaya: Airlangga University Press.

Kuntorini, E.M. dan Astuti, M.D.. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etenol Bulbus Bawang Dayak *(Eletherine americana Merr). Sanis dan Terapan kimia*. Vol. 4. No 1: 15-22.

Kurniawan, M., Munifatul, I., dan Yulita, N. 2010. Kandungan Klorofil, Karotenoid, dan Vitamin C pada Beberapa Spesies Tumbuhan Akuatik. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 18(1): 29, 33-35.

Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida,Fenilpropanoida dan Alkaloida.*Usu Repository*, 1–25.

Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus ferrugineus (Zoll & Moritzi)* Bent yang Berfungsi sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA. Vol. 7 (1-2): 12-24.*

Millati, N. 2016. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT Senyawa Steroid Fraksi Petroleum eter Mikroalga *Chlorella sp*. *Skripsi.* Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Molyneux, P. 2004. *The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) For Esstimating Antioxidant Activity*. *Songklanarin J. Sci. Technol*, 26 (2), 211-219.

Muharram. 2010. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak N-heksana Daun Pare (*Momordica chanrantia L.). Bionature. Vol 11 (2). Hlm 70-78.*

Mustofa. 2008. *Fitofarmaka*. *http://fkuii.org.* Diakses pada tanggal 8 November 2017.

Ningsih, E.M. 2015. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Steroid pada Fraksi n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Nurmillah, O. Y. 2009. Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit buah, Batang dan Daun Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.). *Skripsi diterbitkan.* Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian IPB.

Oliveira, N.M., Meira, C.I.C., Aguiar, R.M, De Oliveira, D.M., Moura, C.W.N., Filho, S.A.V. 2015. Biological Activites of Extracts from Padina biogesenni and Sargassum stenophylum, Seaweeds Naturaly Foud In Baia De Todos Os Santos, Brazil. *International Journal of Pharmarcy and Pharmaceutical Sciences, Vol 7.*

Pal, D. K., & Nimse, S. B. 2006. *Little known uses of common aquatic plant, Hydrilla verticillata (Linn . f .) Royle*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pamarti, M. 2005. Aktivitas Antioksidatif Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu L.*) dan Stabilitasnya terhadap Panas. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada.

Phukan, P., Phukan, R., & Phukan, S. N. 2015. Heavy metal uptake capacity of Hydrilla verticillata: A commonly available Aquatic Plant. *International Research Journal of Environment Science ISSN*, *4*(3), 2319–1414.

Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.

Prabha, P., & Rajkumar, J. 2015. Research Article Phytochemical Screening and Bioactive Potential of *Hydrillaverticillata*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(3): 1809-1815*

Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity. Analytical Chemistry Medallion Laboratories: Analytical Progress, X(2)*

Putra, D.A.D. 2012. Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri Daun Bunga Tahi Ayam (*Tagateserecta L.*) serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan. *Skripsi*. Universitas Sumatra Utara.

Quthb, S. 2000. *Tafsir fi Zhilalil-Qur'an Jilid 1*. Jakarta : Gema Insani Press.

Quthb, S. 2001. *Tafsir fi Zhilalil-Qur'an Jilid 12*. Jakarta : Gema Insani Press.

Quthb, S. 2004. *Tafsir fi Zhilalil-Qur'an Jilid 8*. Jakarta : Gema Insani Press.

Quthb, S. 2004. *Tafsir fi Zhilalil-Qur'an Jilid 11*. Jakarta : Gema Insani Press.

Rahayu. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia captappa L*) dengan Metode DPPH. *Skripsi* Diterbitkan. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.

Rahmawati, L.M. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Steroid Isolat Hasil KLTP Fraksi Petroleum Eter Mikroalga *Chlorella sp*. Menggunakan UV-Vis. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Rahmawati, M. dan Hidajati, N. 2017. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Mengkudu. *UNESA Journal of Chemistry*. Vol. 6. No 2. Hal 113-118.

Ramesh, S., Rajan, R., & Santhanam, R. 2014. *Freshwater Phytopharmaceutical Compounds*. US: CRC Press.

Reveny, J. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah *(Piper betle* Linn*).Jurnal Ilmu Dasar. Volume 12. Nomor 1.*

Robinson, T. 1995.*Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, Hal 191-216, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. ITB: Bandung.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka pelajar

Rohman, A., Riyanto. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu *(Morinda Citrifolia L,). Agritech, XXV (3): 131-136.*

Sarker, D.S. & Nahar, L. 2009. *Kimia untuk mahasiswa farmasi bahan kimia organik alam dan umum.* Yogyakarta: Pustaka Belajar.

Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi.*Yogyakarta: Liberty

Sayuti, M. 2017. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi, Bagian dan Jenis Pelarut terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan Bambu Laut (*Isis Hippuris*). *Technology Science and Engineering Journal. Volume 1. No 3. Hal 166-174.*

Sembiring, B.B., Ma'mun dan Ginting, E.I. 2006. Pengaruh kehalusan bahan dan lama ekstraksi terhadap mutu ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorriza*, Roxb). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.* 17 (2): 53-58

Setyowati. 2014. Skrining fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus* Murr.) varietas petruk. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI.* Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir al-Misbah; Pesan, Kesan, dan KeserasianAl-quran Jilid 9*. Jakarta: Lentera Hati.

Shofawie, A. T. 1990. Studi tentang Kemampuan Konsumsi Harian Ikan Koan *(Ctenopharyngodon idella)* terhadap Ganggang *(Hydrilla verticillata). Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Sinulingga,S. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid/Triterpenoid dari Akar Tanaman Ekornaga (*Rhaphidhopora Pinnata Schott). Skripsi*. Farmasi. Medan: Universitas Sumatra Utara.

Sudjadi. 2014. *Kimia analisis farmasi*. Yogyakartas: Pustaka Pelajar.

Suhaenah, A., dan Nuryanti, S. 2017. Skrining Fitokimia Ekstrak Jamur Kancing (Agricus bisporus). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia. Vol. 4. No 1.*

Tanor, M. N. 2004. *Hydrilla verticillata* sebagai Sumber Hara pada Sistem Budidaya Kacang Tanah. *Eugenia*. 10(1): 92.

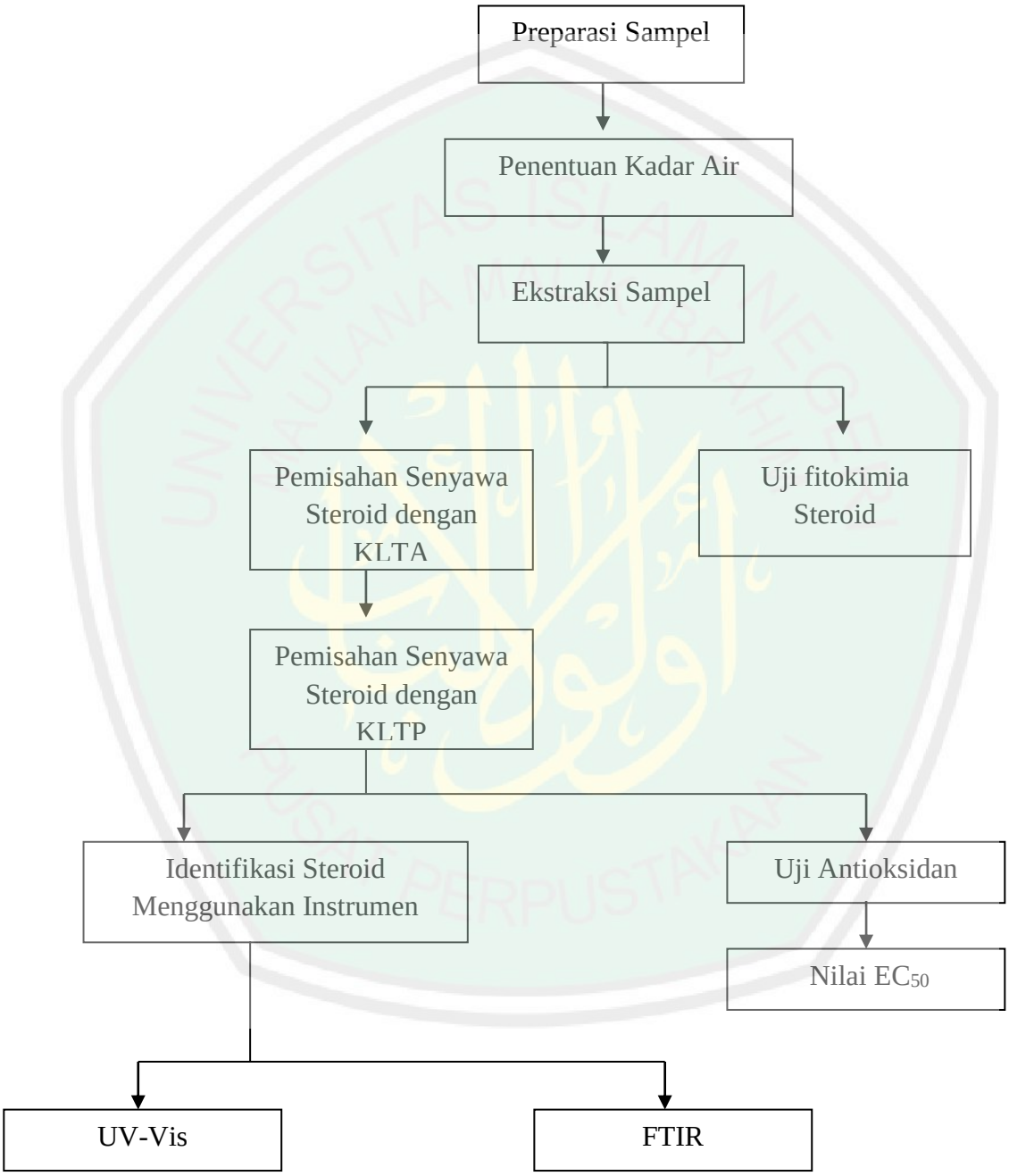
Xiao, Y., Wang, Y.-L., Gao, S.-X., Sun, C., & Zhou, Z.-Y. 2007. Chemical Composition of Hydrilla Verticillata (L. f.) Royle in Taihu Lake. *Chinese Journal of Chemistry*, *25*(5), 661–665.

Zahro, I. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak N-Heksana Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica Linn.*) Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis dan FTIR. *Skripsi.* Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN

1. Rancangan Penelitian



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2. Diagram Alir

2.1 Preparasi sampel.

Hydrilla verticillata

- Diambil di Danau Ranu sebanyak 8 kg
- Dicuci dengan air
- Dikeringkan dibawah sinar matahari tak langsung (naungan)
- Dihaluskan dan diayak dengan ayakan ukuran 90 mesh

Hasil

2.2 Penentuan kadar air secara Thermogravimetri.

Hydrilla verticillata

- Diambil 5 gram
- Dimasukkan dalam cawan porselen yang telah dipreparasi
- Dioven pada suhu 100°- 105°C sekitar ±15 menit
- Didinginkan dalam desikator ± 10 menit dan ditimbang
- Dipanaskan kembali dalam oven ±15 menit
- Didinginkan dalam desikator ± 10 menit dan ditimbang
- Diulangi hingga tercapai berat konstan
- Dihitung kadar air

Hasil

2.3 Ekstraksi maserasi *Hydrilla verticillata.*

Hydrilla verticillata

- Ditimbang sebanyak 50 gram
- Diekstraksi maserasi dengan masing-masing 250 mL n-heksana dan petroleum eter
- Dishaker selama 3 jam dengan kecepatan 120 rpm
- Disaring dengan corong Buchner dan diambil ampasnya
- Diulanggi langkah sebelumnya sebanyak 5 kali pada ampasnya
- Dipekatkan dengan *rotary evaporator*
- Ditimbang dan dihitung nilai rendemennya

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.4 Uji fitokimia

Ekstrak Kasar

- Ditambahkan 0,5 mL kloroform, 0,5 mL asam asetat anhidrida dan 1 – 2 mL asam sulfat pekat (melalui dinding tabung),
- Diamati warna yang terbentuk, jika warna hijau kebiruan menunjukkan adanya golongan senyawa steroid

Hasil

2.5 Pemisahan senyawa steroid dengan KLTA

Ekstrak Kasar

- Dilarutkan dengan pelarut
- Dipotong plat silika GF_{254} dengan ukuran 1x 10 cm yang sudah diaktifkan.
- Ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat
- Dikeringkan
- Dielusi dengan fase gerak n-heksana : etil asetat dengan perbandingan tertentu
- Dihentikan elusi saat eluen mencapai garis batas
- Diamati pemisahan noda yang terbentuk dengan lampu UV-Vis pada panjang gelombang 366 nm.

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.6 Pemisahan senyawa steroid dengan KLTP.

Ekstrak *Hydrilla verticillata*

- Dilarutkan dalam pelarutnya
- Diukur plat dengan ukuran 20 x10 cm, dan diberi jarak 1 cm dari garis bawah dan garis atas
- Dielusi dengan menggunakan eluen terbaik hasil KLTA sampai pada garis batas atas dan dihentikan
- Dikeringkan dan diperiksa noda yang terbentuk di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm atau dengan reagen dan ditandai
- Dihitung nilai Rfnya
- Dikerok noda yang terbentuk dan dilarutkan
- Disentrifugasi

Supernatan | Endapan

- Diuapkan, dan diperoleh isolat pekat

Hasil

2.7 Uji antioksdian denganmenggunakan metode DPPH

2.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan DPPH

- Diambil 1 mL larutan dpph 0,2 mM
- Ditambahkan 3 mL etanol 95%
- Dimasukkan dalam kuvet
- Ditentukan nilai λ_{max}

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.7.2 Uji aktivitas antioksidan

2.7.2.1 Penentuan absorbansi kontrol

Larutan DPPH 0,20 mM

- Diambil 1 ml dengan pipet ukur
- Dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan etanol 95 % 3 mL
- Diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37 ^{0}C
- Dimasukkan dalam kuvet
- Dihitung nilai absorbansinya di spektoskopi UV-Vis dengan λ_{max}yang diketahui

Hasil

2.7.2.1 Penentuan absorbansi masing-masing sampel

Isolat konsentrasi 1, 2, 3, 4,
dan 5 *Hydrilla verticillata*

- Diambil tiap isolat sebanyak 3 ml
- Ditambahkan 1 mL DPPH 0,20 mM
- Diinkubasi selama 30 minute dengan suhu 37 ^{0}C
- Dihitung nilai absorbansinya di spektoskopi UV-Vis dengan λ_{max}yang diketahui
- Dihitung presentase aktivitas antioksidannya

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.8 Identifikasimenggunakanspektrofotometer UV-Vis

Isolat Hasil KLTP

- Diambil isolat dandilarutkan dengan pelarutnya
- Dianalisispadapanjanggelombang 200-800 nm
- Diamati dan dicatat panjang gelombang serta absorbansi pada puncak yang terbentuk

Hasil

2.9 Identifikasimenggunakanspektrofotometer FTIR

Isolat Hasil KLTP

- Dicampur dengan pelet KBr dan digerus bersamaan dengan mortar agate
- Dipres dengan tekanan 80 torr selama 10 menit
- Dianalisis menggunakan FTIR

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan

3.1 Pembuatan reagen *Lieberman-Burchard*

- Asam sulfat pekat = 1-2 mL
- Asam asetat anhidrida = 0,50 mL
- Kloroform = 0,50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat 1-2 mL dan asam asetat anhidrida 0,50 mL dicampur ke dalam kloroform 0,50 mL, Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan.

3.2 Pembuatan larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL etanol

Volume = 50 mL = 0,05 L

BM DPPH = 394,33 g/mol = 394,33 mg/mmol

massa DPPH = Volume x BM DPPH x Konsentrasi

= 0,05 L x 394,33 mg/mmol x 0,2 mmol/L

= 3,94 mg

Cara pembuatanya adalah ditimbang serbuk DPPH sebanyak 3,94 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol 10 ml dan dimasukkan dalam labu ukur 50 mL. Selanjutnya ditambahkan etanol sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.3 Pembuatan larutan stok

3.3.1 Larutan stok isolat setroid ekstrak n-heksana

1. Larutan stok isolat 10

ppm $= \frac{mg}{L}$

ppm $= \frac{4{,}40\ mg}{0{,}005\ L}$

ppm = 880

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Jadi untuk mebuat larutan stok 880 ppm yaitu sebanyak 4,4 mg isolat dilarutkan dalam 0,005 L/ 5 mL pelarutnya. Kemudian divortex hingga homogen.

2. Larutan stok isolat 13

ppm $= \frac{mg}{L}$

ppm $= \frac{8{,}20\ mg}{0{,}005\ L}$

ppm = 1640

3. Larutan stok isolat 15

ppm $= \frac{mg}{L}$

ppm $= \frac{3{,}40\ mg}{0{,}005\ L}$

ppm = 680

4. Larutan stok isolat 16

ppm $= \frac{mg}{L}$

ppm $= \frac{4{,}90\ mg}{0{,}005\ L}$

ppm = 980

3.3.2 Larutan stok ekstrak petroleum eter

1. Larutan stok isolat 11

ppm $= \frac{mg}{L}$

ppm $= \frac{6{,}90\ mg}{0{,}005\ L}$

ppm = 1380

2. Larutan stok isolat 15

ppm $= \frac{mg}{L}$

ppm $= \frac{2{,}40\ mg}{0{,}005\ L}$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ppm = 480

3.4 Pembuatan larutan sampel uji aktivitas antioksidan 1,2,3,4, dan 5 ppm

3.4.1 Konsentrasi larutan pada isolat steroid ekstrak ne-heksana

1. Konsentrasi larutan isolat 10

Konsentrasi larutan isolat (ppm)	Volume larutan stok (μL)
1	5,68
2	11,36
3	17,04
4	22,70
5	28,40

$ppm_1 \times V_1 = ppm_2 \times V_2$

$880 \text{ ppm} \times V_1 = 1 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$

$V_1 = 0{,}00568 \text{ mL} = 5{,}68 \ \mu\text{L}$

Jadi untuk membuat larutan 1 ppm yaitu diambil sebanyak 5,68 µL dari larutan 880 ppm kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL dan diencerkan dengan pelarutnya hingga tanda batas

2. Konsentrasi larutan isolat 13

Konsentrasi larutan isolat (ppm)	Volume larutan stok (μL)
1	3,04
2	6,09
3	9,14
4	12,19
5	15,24

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Konsentrasi larutan isolat 15

Konsentrasi larutan isolat (ppm)	Volume larutan stok (μL)
1	7,35
2	14,70
3	22,05
4	29,40
5	36,70

4. Konsentrasi larutan isolat 16

Konsentrasi larutan isolat (ppm)	Volume larutan stok (μL)
1	5,10
2	10,20
3	15,30
4	20,40
5	25,51

3.4.2 Larutan konsentrasi pada ekstrak petroleum eter

1. Konsentrasi larutan isolat 11

Konsentrasi larutan isolat (ppm)	Volume larutan stok (μL)
1	3,60
2	7,20
3	10,80
4	14,40
5	18,11

2. Konsentrasi larutan isolat 15

Konsentrasi larutan isolat (ppm)	Volume larutan stok (μL)
1	10,41
2	20,83
3	31,25
4	41,66
5	52,08

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Perhitungan Rendemen, Kadar Air dan Nilai Rf

4.1 Data pengukuran kadar air sampel *Hydrilla verticillata* kering

Berat cawan kosong						Berat konstan (g)
Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	
55, 76	55, 76	55, 76	55, 76	55,76	55, 76	55, 76

Berat cawan + Sampel						Berat konstan (g)
Sebelum dioven	P1	P2	P3	P4	P5	
60, 76	60, 318	60, 29	60, 298	60, 29	60, 29	60, 30

$$\text{Kadar Air} = \frac{(berat\ cawan + sampel\ sebelum\ dioven) - (berat\ cawan + sampel\ setelah\ dioven)}{berat\ sampel} \times 100\%$$

$$= \frac{60{,}76 - 60{,}30}{5} \times 100\%$$

$$= 9,\ 16\ \%$$

4.2 Perhitungan rendemen hasil maserasi

4.2.1 Ekstrak n-heksana

Berat alas bulat kosong = 161,69 gram

Berat alas bulat + ekstrak pekat = 162,49 gram

Berat ekstrak pekat = 0, 79 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{Berat\ ekstrak\ pekat}{Berat\ Sampel} \times 100\ \%$$

$$= \frac{0{,}79\ gram}{50\ gram} \times 100\ \%$$

$$= 1,\ 59\ \%$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.2.2 Ekstrak petroleum eter

Berat alas bulat kosong = 107,25 gram

Berat alas bulat + ekstrak pekat = 107,72 gram

Berat ekstrak pekat = 0, 47 gram

Rendemen $= \frac{Berat\ ekstrak\ pekat}{Berat\ Sampel} \times 100\ \%$

$= \frac{0{,}47\ gram}{5\ gram} \times 100\ \%$

= 0, 95 %

4.3 Perhitungan berat senyawa steroid hasil KLTP

4.3.1 Isolat steroid ekstrak n-heksana

Isolat	Berat vial kosong (mg)	Berat vial + sampel (mg)	Berat isolat (mg)
10	8701,90	8706,30	4,40
13	8732,40	8740,60	8,20
15	9947,50	9950,90	3,40
16	8765,40	8770,30	4,90

Berat Isolat = (Berat vial + sampel) - Berat vial kosong
=8706,30 - 8701,90
= 4,40 mg

4.3.2 Isolat steroid ekstrak petroleum eter

Isolat	Berat vial kosong (mg)	Berat vial + sampel (mg)	Berat isolat (mg)
11	8870,00	8876,90	6,90
13	8835,00	8837,30	2,30
15	9972,50	9974,90	2,40

4.4 Perhitungan dan hasil nilai Rf KLT

4.4.1 Perhitungan dan hasil nilai Rf KLTA

$$\text{Harga Rf} = \frac{\textbf{Jarak yang ditempuh noda}}{\textbf{jarang yang ditempuh eluen}}$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1. Eluen n-heksana : etil asetat (19:1)

Noda	Ekstrak n-heksana				Ekstrak petroleum eter			
	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda (cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda (cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf
1	Oranye	0,10	8	0,01	Oranye	0,10	8	0,01
2	Oranye	0,30	8	0,03	Oranye	0,30	8	0,03
3	Merah	0,80	8	0,10	Merah	0,70	8	0,08
4	Kuning	2,00	8	0,25	Kuning	2,00	8	0,25
5	Merah	2,25	8	0,28	Merah	2,20	8	0,27
6	Merah	3,05	8	0,38	Merah	3,00	8	0,37
7	Hijau	4,05	8	0,50	Hijau	4,10	8	0,51
8	Biru	4,30	8	0,53	Biru	4,30	8	0,53
9	Hijau	6,05	8	0,75	Hijau	6,10	8	0,76

2. Eluen n-heksana : etil asetat (18:2)

Noda	Ekstrak n-heksana				Ekstrak petroleum eter			
	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda (cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda (cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf
1	Oranye	0,10	8	0,01	Oranye	0,10	8	0,01
2	Oranye	0,30	8	0,03	Oranye	0,30	8	0,03
3	Merah	1,35	8	0,16	Merah	1,40	8	0,17
4	Merah	2,00	8	0,25	Merah	2,20	8	0,27
5	Hijau	3,60	8	0,45	Hijau	3,65	8	0,45
6	Kuning	3,80	8	0,47	Kuning	3,85	8	0,48
7	Merah	4,90	8	0,61	Merah	4,90	8	0,61
8	Biru	6,00	8	0,75	Biru	6,20	8	0,77
9	Hijau	6,60	8	0,82	Hijau	6,65	8	0,83

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Eluen n-heksana : etil asetat (17:3)

Noda	Ekstrak n-heksana				Ekstrak petroleum eter			
	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda(cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda(cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf
1	Oranye	0,20	8	0,02	Oranye	0,05	8	0,01
2	Oranye	0,35	8	0,04	Oranye	0,30	8	0,03
3	Merah	0,80	8	0,10	Merah	0,80	8	0,10
4	Kuning	2,10	8	0,26	Kuning	2,05	8	0,25
5	Merah	2,30	8	0,28	Merah	2,25	8	0,28
6	Merah	3,15	8	0,39	Hijau	4,05	8	0,50
7	Hijau	4,10	8	0,51	Biru	4,35	8	0,54
8	Biru	4,40	8	0,55	Hijau	6,10	8	0,76
9	Hijau	6,15	8	0,76				

4. Eluen n-heksana : etil asetat (16:4)

Noda	Ekstrak n-heksana				Ekstrak petroleum eter			
	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda(cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda(cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf
1	Oranye	0,05	7,80	0,01	Oranye	0,05	7,80	0,01
2	Merah	2,30	7,80	0,29	Merah	2,40	7,80	0,30
3	Merah	3,10	7,80	0,39	Merah	3,30	7,80	0,42
4	Merah	3,60	7,80	0,46	Ungu	3,70	7,80	0,47
5	Hijau	4,45	7,80	0,57	Hijau	4,30	7,80	0,55
6	Kuning	4,65	7,80	0,59	Kuning	4,55	7,80	0,58
7	Biru	6,25	7,80	0,80	Biru	6,20	7,80	0,79
8	Merah	6,65	7,80	0,85	Merah	6,50	7,80	0,83
9	Hijua	7,30	7,80	0,93	Hijau	7,35	7,80	0,94

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5. Eluen n-heksana : etil asetat (15:5)

Noda	Ekstrak n-heksana				Ekstrak petroleum eter			
	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda(cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf	Warna noda dibawah lampu UV 366nm	Jarak yang ditempuh noda(cm)	Jarak yang ditempuh eluen (cm)	Nilai Rf
1	Oranye	0,05	8	0,01	Oranye	0,05	8	0,01
2	Coklat tua	0,60	8	0,07	Coklat tua	0,60	8	0,07
3	Coklat tua	1	8	0,12	Coklat tua	1	8	0,12
4	Merah	2,40	8	0,30	Merah	2,40	8	0,30
5	Merah	3,30	8	0,41	Merah	3,20	8	0,40
6	Merah	3,80	8	0,47	Ungu	3,80	8	0,47
7	Hijau	4,50	8	0,56	Hijau	4,40	8	0,55
8	Kuning	4,90	8	0,61	Kuning	4,80	8	0,60
9	Biru	6,50	8	0,81	Biru	6,30	8	0,78
10	Merah	6,80	8	0,85	Merah	6,70	8	0,83
11	Hijau	7,15	8	0,89	Hijau	7	8	0,87
12	Merah	7,25	8	0,90	Merah	7,25	8	0,90
13	Hijau	7,50	8	0,93	Hijau	7,50	8	0,93

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.4.2 Perhitungan dan hasil nilai Rf KLTP

1. Nilai Rf ekstrak n-heksana

No	Rf	Warna Ekstrak n-heksana			
		Setelah Elusi		Setelah disemprot Liebermann-Burchard	
		Visual	UV 366 nm	Visual	UV 366 nm
1	0,01	O	O	K	O
2	0,16	P	Ct	P	Ct
3	0,19	P	Ct	P	Ct
4	0,27	P	M	Hg	M
5	0,41	K	M	K	M
6	0,50	P	M	P	M
7	0,54	P	Ht	P	Ht
8	0,58	P	M	K	M
9	0,63	Hj	M	Hg	M
10	0,69	Hj	Hj	Hj	Hj
11	0,74	P	K	Hj	K
12	0.75	K	M	K	M
13	0,88	P	B	Hj	B
14	0,92	K	M	Hj	M
15	0,93	K	Ht	Hj	Ht
16	0,95	K	Hj	Hj	Hj

K: kuning, P: putih, Hj: Hijau, Ht: hitam, O: oranye, C: coklat, Ct: coklat tua, U: ungu, Hg: hijau gelap, M: merah, B: biru.

2. Nilai Rf ekstrak petroleum eter

No	Rf	Warna Ekstrak petroleum eter			
		Setelah Elusi		Setelah disemprot Liebermann-Burchard	
		Visual	UV 366 nm	Visual	UV 366 nm
1	0,01	O	O	Ht	O
2	0,14	P	Ct	P	Ct
3	0,21	K	Ht	P	Ht
4	0,28	K	M	P	M
5	0,42	P	M	Hj	M
6	0,52	K	M	P	M
7	0,57	P	Ht	P	Ht
8	0,60	Hj	M	Hg	M
9	0,62	Hj	U	Hg	U
10	0,66	P	M	P	M
11	0,71	P	Hj	Hj	Hj
12	0.79	P	K	P	K
13	0,90	P	M	Hj	M
14	0,94	K	O	P	O
15	0,96	P	Ht	Hj	Ht

K: kuning, P: putih, Hj: Hijau, Ht: hitam, O: oranye, C: coklat, Ct: coklat tua, U: ungu, Hg: hijau gelap, M: merah, B: biru.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5. Data Hasil Uji Antioksidan

5.1 Data hasil uji antioksidan isolat steroid ekstrak n-heksana

1. Data hasil uji antioksidan isolat steroid 10

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)
	A_1	A_2	A_3		
Kontrol	0,2755	0,2713	0,2720	0,2755	
1	0,2492	0,2978	0,2726	0,2726	1,05
Kontrol	0,2723	0,2724	0,2695	0,2695	
2	0,2806	0,2661	0,2632	0,2661	1,26
Kontrol	0,2696	0,2695	0,2706	0,2755	
3	0,2815	0,2757	0,2815	0,2757	-0,07
Kontrol	0,2690	0,2683	0,2674	0,2755	
4	0,2758	0,2859	0,2763	0,2758	-0,10
Kontrol	0,2625	0,2634	0,2650	0,2755	
5	0,2807	0,2697	0,2689	0,2689	2,39

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan } = \frac{Absorbansi\ kontrol - Absorbansi\ sampel}{Absorbansi\ kontrol} \times 100\%$$

Nilai EC_{50} dihitung dengan *"GraphPad prism5 software, Regression for analyzing doseresponse data.*

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)	EC_{50} (ppm)
1	0	1,05	2975
2	0,30	1,26	
3	0,47	-0,07	
4	0,60	-0,10	
5	0,69	2,39	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2. Data hasil uji antioksidan isolat steroid 13

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)
	A_1	A_2	A_3		
Kontrol	0,2620	0,2621	0,2610	0,3029	
1	0,2919	0,2912	0,2907	0,2907	4,02
Kontrol	0,2618	0,3029	0,2606	0,3029	
2	0,2969	0,2613	0,3146	0,2613	13,73
Kontrol	0,2590	0,2586	0,2595	0,3029	
3	0,3058	0,3125	0,3005	0,3005	0,79
Kontrol	0,2603	0,2581	0,2578	0,3029	
4	0,2968	0,3057	0,2885	0,2885	4,75
Kontrol	0,2598	0,2575	0,2566	0,3029	
5	0,2633	0,2620	0,2626	0,2620	13,50

.

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)	EC_{50} (ppm)
1	0	4,02	3413
2	0,30	13,73	
3	0,47	0,79	
4	0,60	4,75	
5	0,69	13,50	

3. Data hasil uji antioksidan isolat steroid 15

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)
	A_1	A_2	A_3		
Kontrol	0,2538	0,3358	0,3369	0,3376	
1	0,3363	0,3378	0,3526	0,3363	0,38
Kontrol	0,3365	0,3366	0,3370	0,3376	
2	0,3528	0,3648	0,3658	0,3528	-4,50
Kontrol	0,3359	0,3354	0,3356	0,3376	
3	0,3658	0,3636	0,3690	0,3636	-7,70
Kontrol	0,3366	0,3376	0,3371	0,3376	
4	0,3732	0,3916	0,3690	0,3690	-9,30
Kontrol	0,3367	0,3344	0,3353	0,3376	
5	0,3788	0,3726	0,3740	0,3726	-10,36

.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)	EC_{50} (ppm)
1	0	0,38	
2	0,30	-4,50	
3	0,47	-7,70	-
4	0,60	-9,30	
5	0,69	-10,36	

4. Data hasil uji antioksidan isolat steroid 16

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)
	A_1	A_2	A_3		
Kontrol	0,2577	0,255	0,2572	0,2894	
1	0,2862	0,2803	0,2822	0,2862	1,10
Kontrol	0,2554	0,2565	0,2554	0,2894	
2	0,2942	0,2933	0,2939	0,2933	-1,34
Kontrol	0,2545	0,2548	0,2539	0,2894	
3	0,2949	0,2937	0,2920	0,2920	-0,89
Kontrol	0,2538	0,2544	0,2894	0,2894	
4	0,2864	0,2975	0,2540	0,2540	12,23
Kontrol	0,2541	0,2548	0,2528	0,2894	
5	0,2730	0,2754	0,2674	0,2674	7,60

.

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)	EC_{50} (ppm)
1	0	1,10	
2	0,30	-1,34	56,49
3	0,47	-0,89	
4	0,60	12,23	
5	0,69	7,60	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5.2 Data hasil ujiantioksidanisolat petroleum eter

1. Data hasil uji antioksidan isolat steroid 11

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)
	A_1	A_2	A_3		
Kontrol	0,2336	0,2330	0,2301	0,2247	
1	0,1442	0,1454	0,1416	0,1454	35,29
Kontrol	0,2261	0,2250	0,2256	0,2250	
2	0,1311	0,1490	0,1494	0,1490	33,77
Kontrol	0,2251	0,2257	0,2252	0,2252	
3	0,1503	0,1508	0,1475	0,1475	34,50
Kontrol	0,2254	0,2254	0,2259	0,2336	
4	0,1522	0,1507	0,1298	0,1507	35,48
Kontrol	0,2247	0,2266	0,2260	0,2330	
5	0,1425	0,1447	0,1476	0,1425	38,84

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)	EC_{50} (ppm)
1	0	35,29	48,56
2	0,30	33,77	
3	0,47	34,50	
4	0,60	35,48	
5	0,69	38,84	

2. Data hasil uji antioksidan isolat steroid 15

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata	Aktivitas Antioksidan (%)
	A_1	A_2	A_3		
Kontrol	0,2232	0,2215	0,2214	0,2214	
1	0,1506	0,1537	0,1629	0,1629	26,42
Kontrol	0,2214	0,2220	0,2206	0,2206	
2	0,1375	0,1575	0,1550	0,1575	28,60
Kontrol	0,2199	0,2187	0,2196	0,2187	
3	0,1602	0,1540	0,1616	0,1540	29,58
Kontrol	0,2191	0,2186	0,2162	0,2199	
4	0,1543	0,1664	0,1640	0,1543	29,83
Kontrol	0,2168	0,2160	0,2169	0,2232	
5	0,1570	0,1581	0,1637	0,1570	29,65

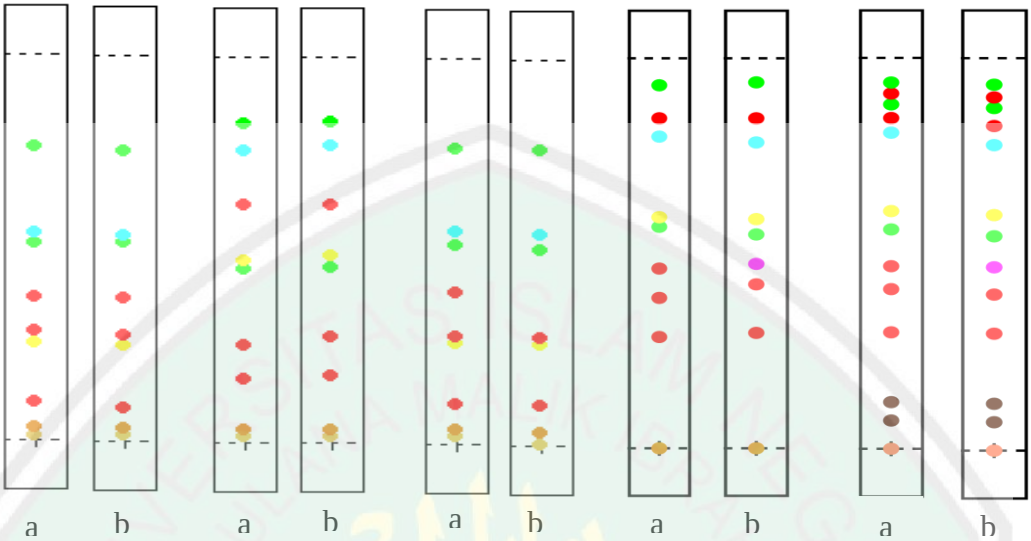
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

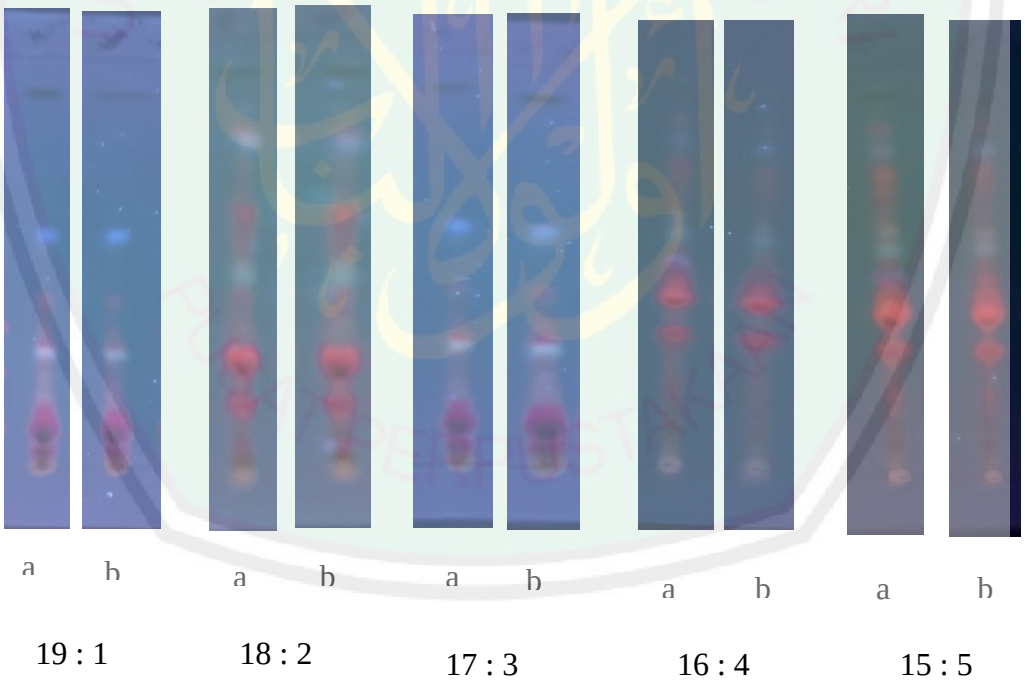
Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)	EC_{50} (ppm)
1	0	26,42	501,50
2	0,30	28,60	
3	0,47	29,58	
4	0,60	29,83	
5	0,69	29,65	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6. Data Hasil Identifikasi

6.1 Data hasil identifikasi KLTA ekstrak n-heksana dan petroleum eter

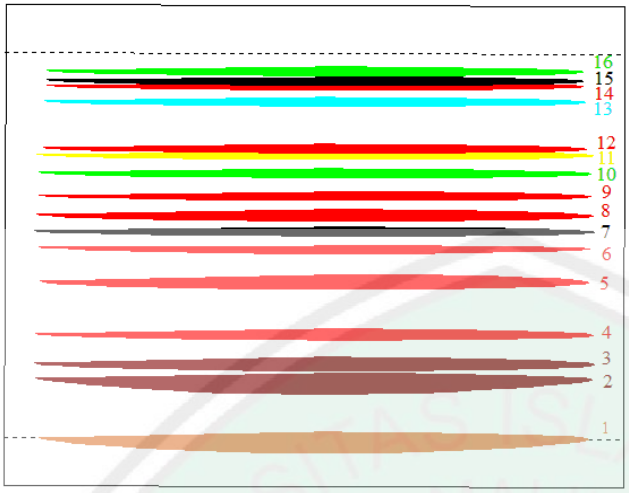




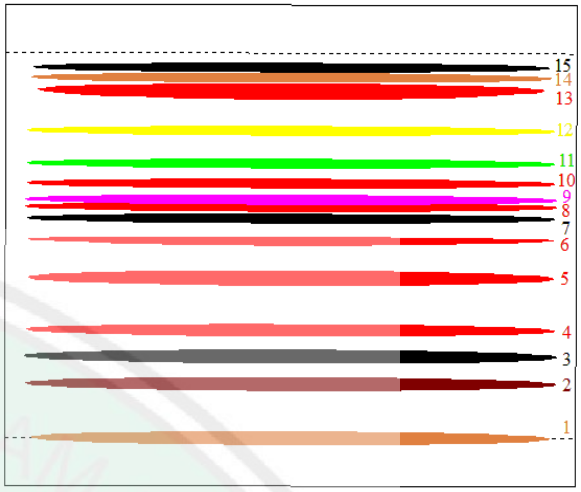
Keterangan : a : ekstrak n-heksana
b : ekstrak petroleum eter

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6.2 Data hasil identifikasi KLTP ekstrak n-heksana dan petroleum eter



a

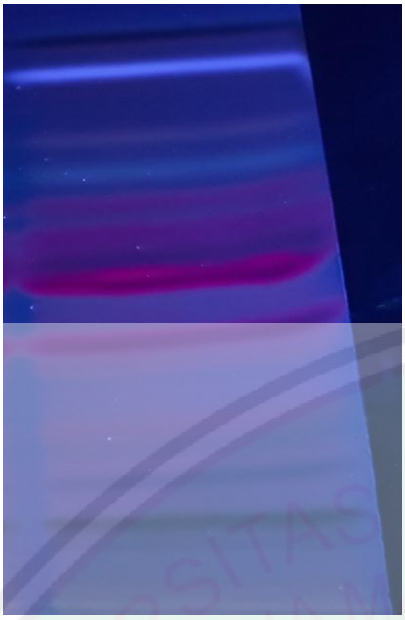


b

a*

b*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



a**

b**

Keterangan gambar :

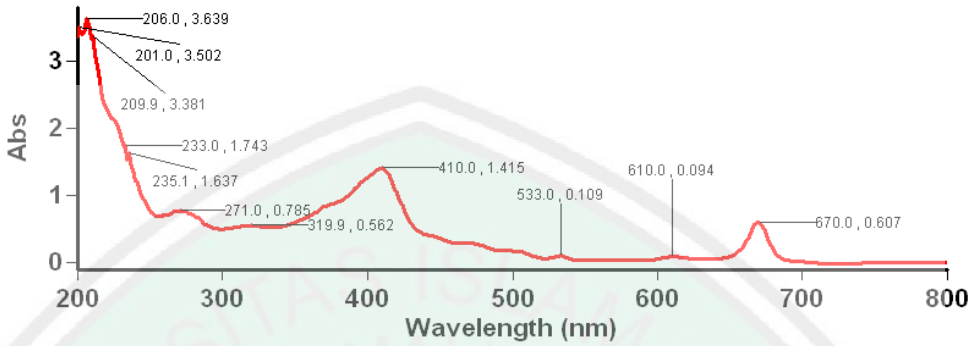
a : Ilustrasi ekstrak n-heksana
a* : Visual ekstrak n-heksana
a** : UV 366 nm ekstrak n-heksana

b : Ilustrasi ekstrak petroleum eter
b* : Visual ekstrak petroleum eter
b** : UV 366 nm ekstrak petroleum eter

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6.3 Data hasil spektrofotometer Uv-Vis

6.3.1 Ekstrak n-heksana



Scan Analysis Report

Report Time : Thu 08 Nov 10:09:14 AM 2018
Method:
Batch: D:\Laili Mei\Lamdha Maks n-Heksana B (08-11-2018).DSW
Software version: 3.00(339)
Operator: Rika

Sample Name: n-Heksana B
Collection Time 11/8/2018 10:11:40 AM

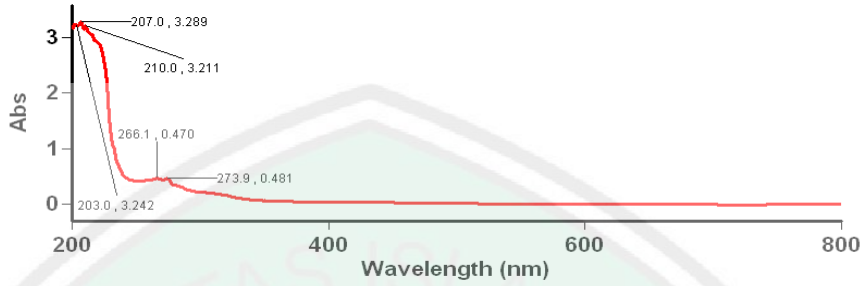
Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.1nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
670.0	0.607
610.0	0.094
533.0	0.109
410.0	1.415
319.9	0.562
271.0	0.785
235.1	1.637
233.0	1.743
209.9	3.381
206.0	3.639
201.0	3.502

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6.3.2 Isolat steroid ekstrak n-heksana

1. Isolat steroid 10



Sample Name: Isolat 10 heksana B
Collection Time 10/16/2018 4:00:47 PM

Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
273.9	0.481
266.1	0.470
210.0	3.211
207.0	3.289
203.0	3.242

2. Isolat steroid 13

Sample Name: Isolat 13 heksana B
Collection Time 10/16/2018 4:02:41 PM

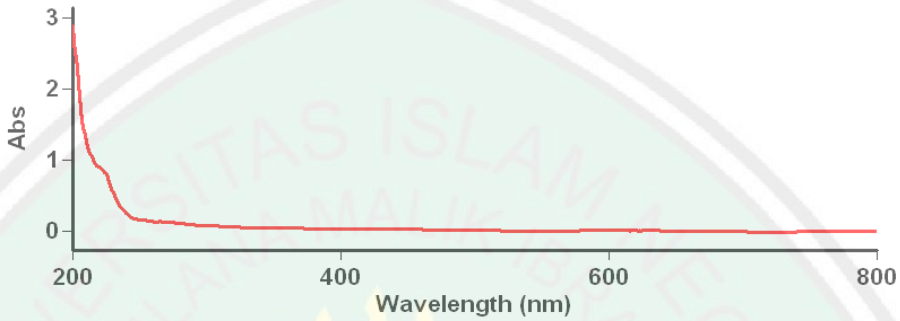
Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
273.9	1.027

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

267.0	0.944
231.1	2.006
223.1	3.471
221.0	3.447
218.0	3.415
215.1	3.358
213.0	3.456
205.9	3.469
203.0	3.473

3. Isolat steroid 15

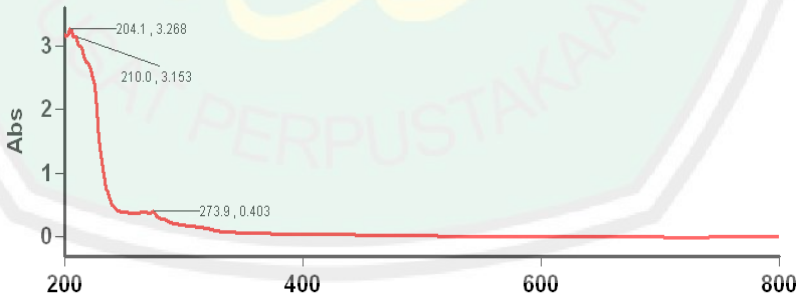


Sample Name: Isolat 15 heksana B
Collection Time 10/16/2018 4:05:01 PM

Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.0nm

No peak found above threshold

4. Isolat steroid 16



Sample Name: Isolat 3 heksana B
Collection Time 10/16/2018 4:06:59 PM

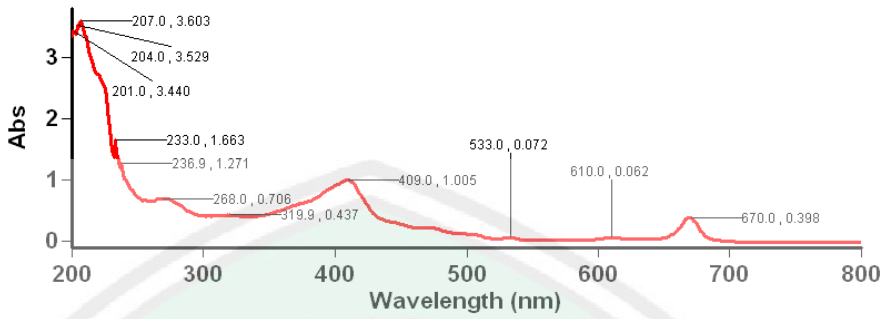
Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
273.9	0.403

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

267.0	0.396
210.0	3.153
204.1	3.268

6.3.3 Ekstrak petroleum eter



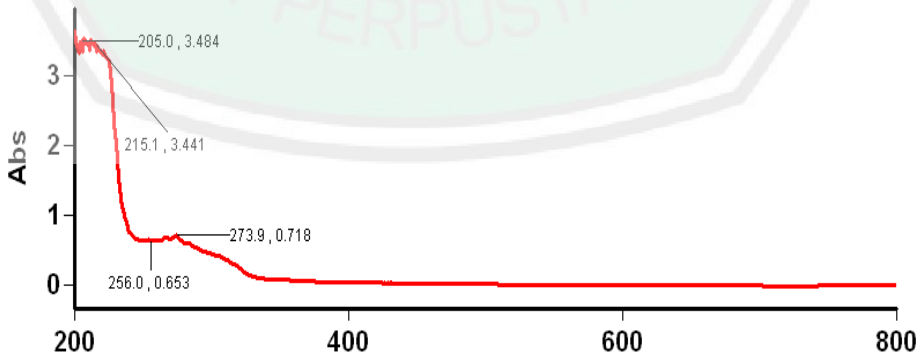
Sample Name: PE 2
Collection Time 11/8/2018 10:22:04 AM

Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.1nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
670.0	0.398
610.0	0.062
533.0	0.072
409.0	1.005
319.9	0.437
268.0	0.706
236.9	1.271
233.0	1.663
207.0	3.603
204.0	3.529
201.0	3.440

6.3.4 Isolat steroid ekstrak petroleum eter

1. Isolat steroid 11



Sample Name: Isolat 1 PE B
Collection Time 10/16/2018 4:20:34 PM

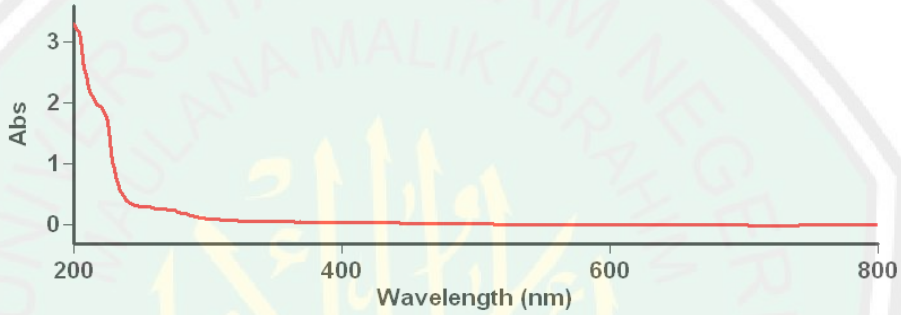
Peak Table

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.0nm

Wavelength (nm)	Abs
603.0	0.017
273.9	0.718
266.1	0.684
256.0	0.653
254.0	0.660
221.0	3.359
216.9	3.414
215.1	3.441
212.1	3.508
210.0	3.461
207.0	3.529
205.0	3.484

2. Isolat steroid 15



Sample Name: Isolat 15 PE B
Collection Time 10/16/2018 4:22:40 PM

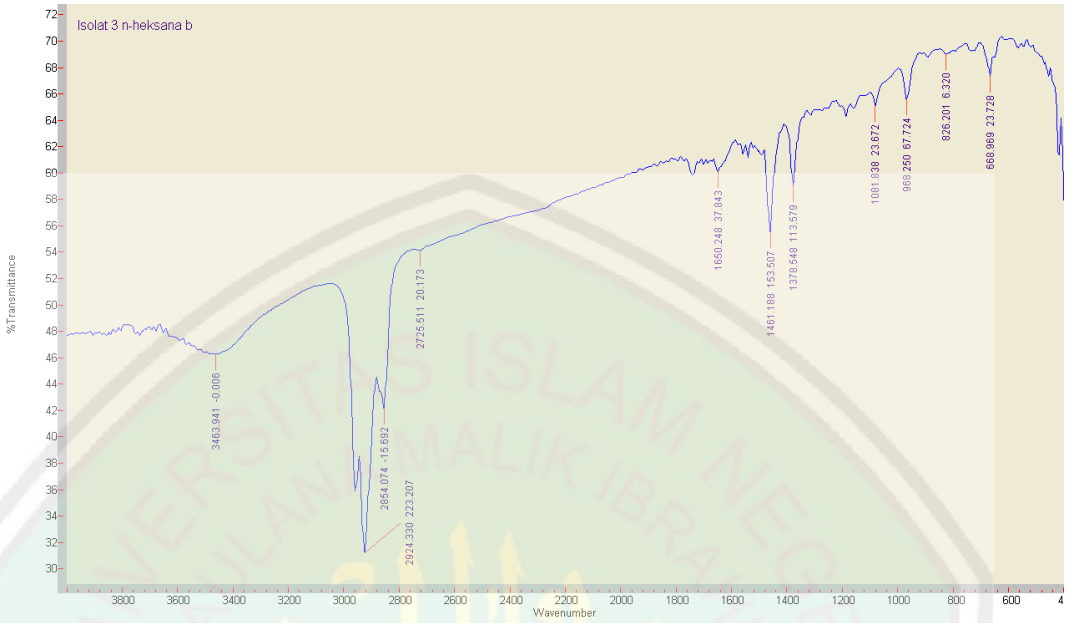
Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 200.0nm

No peak found above threshold

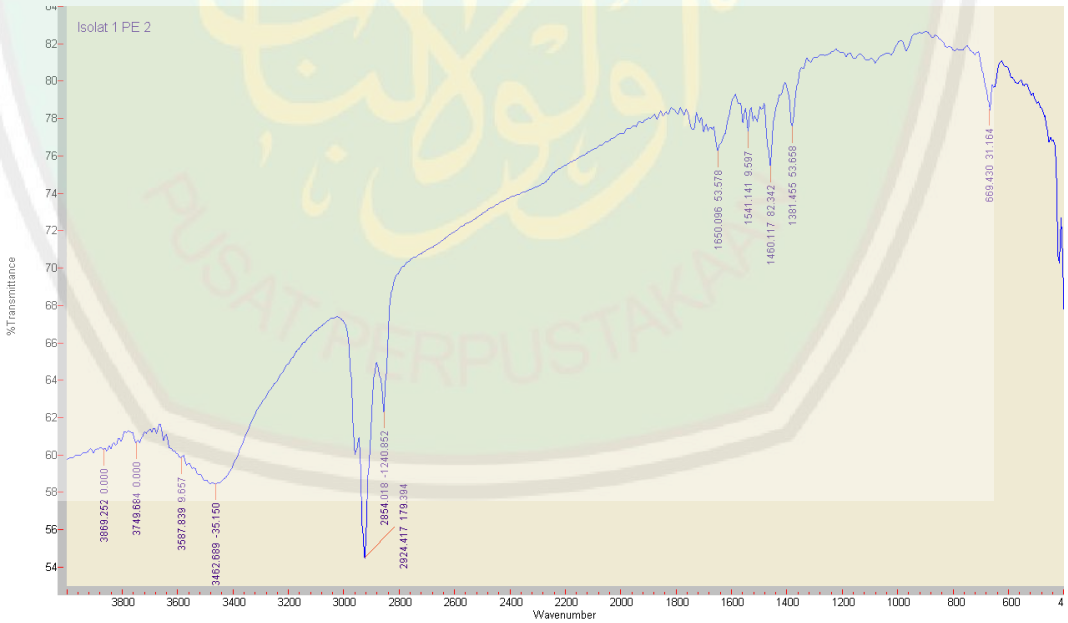
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6.4 Data hasil spektrofotometer FTIR

1. Isolat steroid 16 ekstrak n-heksana



2. Isolat steroid 11 ekstrak petroleum eter



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

7. Dokumentasi

1. Preparasi sampel

Hydrilla verticillata basah

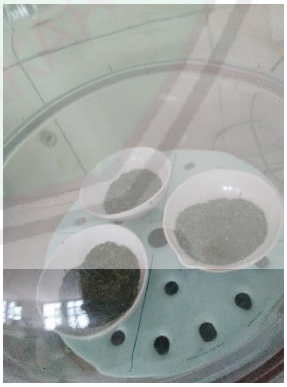
Pengeringan *Hydrilla verticillata*

*Hydrilla verticillata*kering

*Hydrilla verticillata*serbuk

2. Uji kadar air sampel

Cawan kosong



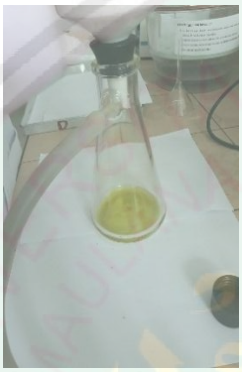
Uji kadar air

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Ekstraksi maserasi sampel

Proses Maserasi

Filtrat n-heksana

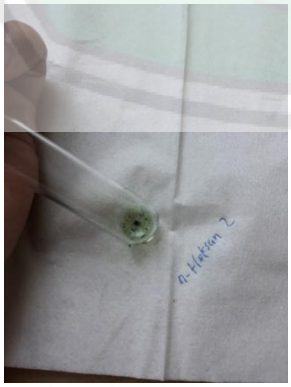


Filtrat petroleum eter

Ekstrak n-heksna

Ekstrak petroleum eter

4. Uji fitokimia steroid



Ekstrak n-heksana

Ekstrak petroleum eter

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5. Pemisahan senyawa steroid kromatografi lapis tipis

KLTA

KLTP

6. Uji antioksidan

Isolat 10 ekstrak n-heksana

Isolat 13 ekstrak n-heksana

Isolat 15 ekstrak n-heksana

Isolat 16 ekstrak n-heksna

Isolat 11 ekstrak petroleum eter

Isolat 15 ekstrak petroleum eter

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG