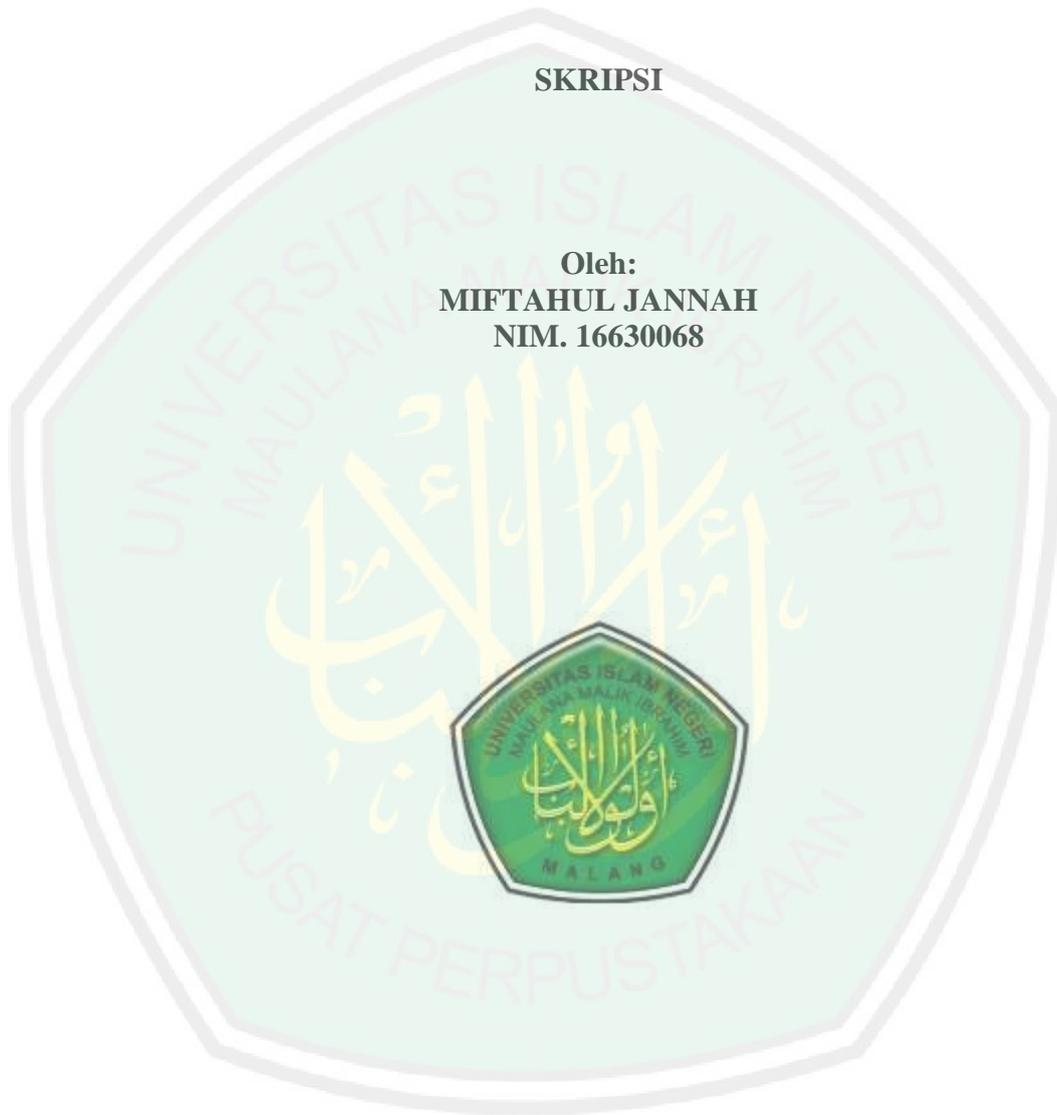


**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT
DAN PETROLEUM ETER HASIL HIDROLISIS EKSTRAK METANOL
Hydrilla verticillata TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
MIFTAHUL JANNAH
NIM. 16630068



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT
DAN PETROLEUM ETER HASIL HIDROLISIS EKSTRAK METANOL
Hydrilla verticillata TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
MIFTAHUL JANNAH
NIM. 16630068

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
2020**

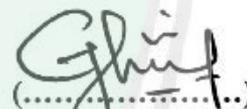
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT
DAN PETROLEUM ETER HASIL HIDROLISIS EKSTRAK METANOL
Hydrilla verticillata TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
MIFTAHUL JANNAH
NIM. 16630068

Telah disetujui oleh:

1. Pembimbing I : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002


(.....)

2. Pembimbing II : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M. Sc
NIDT. 19900906 20180201 2 239


(.....)



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT
DAN PETROLEUM ETER HASIL HIDROLISIS EKSTRAK METANOL
Hydrilla verticillata TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
MIFTAHUL JANNAH
NIM. 16630068

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 5 Juni 2020

Penguji Utama	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	(.....)
Ketua Penguji	: Vina Nurul Istighfarini, M.Si LB. 63025	(.....)
Sekretaris Penguji	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(.....)
Anggota Penguji	: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M. Sc NIDT. 1990090620 180201 2 239	(.....)



Mengesahkan,
Ketua Jurusan

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Miftahul Jannah

NIM : 16630068

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat dan Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata* terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan 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 di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 09 Juni 2020

Yang membuat pernyataan,



Miftahul Jannah
NIM. 16630068

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin, dengan penuh syukur kepada Allah Swt. saya persembahkan karya sederhana ini kepada:

Orang Tua saya tercinta, Bapak Suwandi dan Ibu Titik Murdiati yang selama ini telah memberikan segala bentuk dukungan, nasihat, doa dan motivasi untuk keberhasilan saya. Terimakasih banyak Bapak, Cetokmu telah mengantarkan anakmu menjadi seorang sarjana.

Adik saya, Rahmah Wulandari yang selalu menghibur, menemani, dan mendoakan saya. Semoga Allah memudahkan kamu untuk menggapai cita-citamu. Keluarga besar Bapak Sukarto, yang selalu menghibur dan mendoakan.

Ibu Rachmawati Ningsih M.Si selaku dosen wali, yang telah memberikan motivasi. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si dan Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku pembimbing yang dengan sabar memberikan arahan, hiburan, dan motivasi. Semoga kebaikan Bapak Ibu mendapat balasan yang lebih dari Allah Swt.

Wisnu Chandra Dhamar Drajad, S.TP., teman bucin yang selalu mendoakan, memberikan semangat dan motivasi. Semoga Allah Swt. segera dekatkan jarak antar daratan ini, dan mengabulkan segala harapan kita.

Kawan seperjuangan Hydrilla squad (Vivi dan Vera), Organik Squad (Vinna, Hasan, Pipid, Icem, Atika, Titis, Yuni, Umhas, Sizul) serta Kimia angkatan 2016, terimakasih sudah menjadi bagian di hidup saya. Semoga pandemi Covid-19 ini segera berakhir sehingga kalian semua diberikan kemudahan untuk menyelesaikan skripsi. Sahabat tercinta, Zulia Davita Sari dan Rofi Anas Firdaus yang telah memberikan semangat, dukungan, dan doa. Terimakasih sudah menjadi pendengar yang baik, selalu ada dan siap membantu. Teruntuk mbak Nende, Mas Irfan dan Mas Mas'uth trimakasih untuk segala bantuan dan pelajaran selama di Lab. Semoga Allah selalu memudahkan urusan kalian.

Bapak Ade, yang telah memberikan tumpangan WIFI. Terimakasih, karena WIFI Bapak Ade saya bisa lulus jalur online di tengah pandemi Covid-19 tahun 2020 ini.

MOTTO

Dalam berkarya cuma butuh 2 hal:
Punya keinginan dan memulai.

-Miftahul J.-

...

Kemenangan sejati adalah ketika kita mampu mengalahkan diri sendiri.
Mengalahkan segala kemalasan, keputus'asaan, pesimis, hawa nafsu, ego, dan
mengalahkan segala prasangka buruk kepada Allah”

-Miftahul J.-

...

Jangan mudah menyerah,
أَلَا إِنَّ نَصْرَ اللَّهِ قَرِيبٌ.....

“....Ingatlah, sesungguhnya pertolongan Allah itu amat dekat”
[Qs. Al-Baqarah: 214]

...

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Maka sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan”
[Qs. Al-Insyirah: 5]

**Percayalah bahwa Allah memberikan
“KEMUDAHAN”
dalam setiap urusan hamba-Nya.**

[*Al-Baqarah: 185 dan At-Talaq: 4]

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, hidayah, dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat dan Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata* terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri MALIKI Malang. Sholawat serta salam selalu penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, sosok teladan yang telah membimbing kita ke dalam jalan yang benar. Skripsi ini telah disusun dengan semaksimal mungkin dan tidak lepas dari bantuan berbagai pihak sehingga dapat memperlancar penulisan naskah ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua tercinta yang telah banyak memberikan dukungan, doa, nasihat, dan motivasi. Serta keluarga besar yang selalu menghibur dan memberi semangat.
2. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si., selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si., selaku ketua jurusan kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing utama dan Lulu'atul Hamidatu Ulya, M. Sc selaku dosen pembimbing agama, yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan, dan memberikan masukan dalam penyusunan skripsi.
6. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana, serta wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.

7. Pejuang organik, *Hydrilla Squad* dan *Carbon* angkatan 2016 selaku teman seperjuangan jurusan kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) MALIKI Malang yang telah memberikan bantuan, informasi, bantuan, motivasi dan semangat kepada Penulis.
8. Kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama penyusunan skripsi.

Terlepas dari semua itu, penulis menyadari sepenuhnya bahwa masih terdapat kekurangan baik dari segi susunan kalimat maupun tata bahasanya. Oleh karena itu, dengan tangan terbuka penulis menerima segala saran dan kritik dari pembaca agar penulis dapat lebih baik lagi dalam penulisan skripsi maupun karya tulis lainnya. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat terhadap pembaca.

Malang, 09 Mei 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث	xvii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Batasan Masalah.....	8
1.5 Manfaat penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Hydrilla verticillata</i>	10
2.1.1 Deskripsi dan klasifikasi <i>Hydrilla verticillata</i>	10
2.1.2 Kandungan <i>Hydrilla verticillata</i>	12
2.2 Ekstraksi Komponen aktif <i>Hydrilla verticillata</i>	13
2.3 Hidrolisis dan Partisi	16
2.4 Aktivitas Antibakteri.....	20
2.4.1 Bakteri	20
2.4.1.1 Bakteri Gram Positif	22
2.4.1.2 Bakteri Gram Negatif	23
2.4.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri.....	25
2.4.2.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri Secara Umum	25
2.4.2.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
2.4.2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia coli</i>	27
2.4.2.4 Media Pertumbuhan Bakteri	28
2.4.3 Antibakteri	29
2.4.4 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri	30
2.4.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri	33
2.5 Identifikasi Senyawa Aktif <i>Hydrilla verticillata</i> dengan Uji Fitokimia.....	34
2.5.1 Triterpenoid	34
2.5.2 Alkaloid	35
2.5.3 Flavonoid.....	36
2.5.4 Steroid.....	37

2.5.5 Tanin.....	38
2.5.6 Saponin.....	39
2.6 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis.....	40
2.7 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR.....	41
2.8 Pemanfaatan <i>Hydrilla verticillata</i> sebagai Antibakteri dalam Perspektif Islam.....	42

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	46
3.2 Alat dan Bahan.....	46
3.2.1 Alat.....	46
3.2.2 Bahan.....	46
3.3 Rancangan Penelitian.....	47
3.4 Tahapan Penelitian.....	48
3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	48
3.5.1 Preparasi Sampel.....	48
3.5.2 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri.....	49
3.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif.....	50
3.5.4 Hidrolisis Ekstrak Metanol <i>Hydrilla verticillata</i>	50
3.5.5 Partisi Ekstrak Metanol <i>Hydrilla verticillata</i>	51
3.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri.....	51
3.5.6.1 Sterilisasi Alat.....	51
3.5.6.2 Pembuatan Media.....	52
3.5.6.3 Peremajaan Biakan Murni Bakteri.....	52
3.5.6.4 Pembuatan Larutan Biakan Bakteri (Inokulum).....	53
3.5.6.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	53
3.5.7 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam <i>Hidrylla verticillata</i>	54
3.5.7.1 Uji Triterpenoid.....	54
3.5.7.2 Uji Alkaloid.....	54
3.5.7.3 Uji Flavonoid.....	55
3.5.7.4 Uji Steroid.....	55
3.5.7.5 Uji Tanin.....	55
3.5.7.5.1 Uji dengan FeCl ₃	55
3.5.7.5.2 Uji dengan Larutan Gelatin.....	56
3.5.7.6 Uji Saponin.....	56
3.5.8 Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.....	56
3.5.9 Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR.....	56
3.5.10 Analisis Data.....	57

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel.....	58
4.2 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri.....	59
4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif.....	59
4.4 Hidrolisis Ekstrak Metanol <i>Hydrilla Verticillata</i>	61
4.5 Partisi Ekstrak Metanol <i>Hydrilla Verticillata</i>	61
4.6 Uji Aktivitas Antibakteri.....	62
4.7 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam <i>Hydrilla Verticillata</i>	74
4.7.1 Triterpenoid dan Steroid.....	76
4.7.2 Flavonoid.....	79

4.7.3 Tanin.....	81
4.7.4 Saponin	82
4.7.5 Alkaloid	83
4.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	85
4.9 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan FTIR.....	90
4.9.1 Identifikasi Gugus Fungsi pada Ekstrak Metanol <i>Hydrilla verticillata</i>	90
4.9.2 Identifikasi Gugus Fungsi pada Fraksi Etil Asetat <i>Hydrilla verticillata</i>	93
4.9.3 Identifikasi Gugus Fungsi pada Fraksi Petroleum Eter <i>Hydrilla verticillata</i>	95
4.10 Analisis Data.....	98
4.11 Pemanfaatan <i>Hydrilla verticillata</i> dalam Perspektif Islam.....	101
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	105
5.2 Saran.....	105
DAFTAR PUSTAKA	106
LAMPIRAN.....	120



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi pada <i>Hydrilla verticillata</i>	12
Tabel 2.2 Konstanta Dielektrikum dan Tingkat Kelarutan Beberapa Pelarut	15
Tabel 2.3 Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Negatif	22
Tabel 2.4 Ketentuan Kekuatan Bakteri	34
Tabel 2.5 Tabel Warna dan Warna Komplementer	41
Tabel 2.6 Tabel Frekuensi Inframerah	42
Tabel 4.1 Hasil Partisi dan Rendemen Masing-Masing Fraksi.....	62
Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri <i>E. Coli</i>	64
Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	68
Tabel 4.4 Hasil Uji Fitokima Ekstrak/Fraksi <i>Hydrilla verticillata</i>	75
Tabel 4.5 Interpretasi Spektra FTIR Ekstrak Metanol <i>Hydrilla verticillata</i>	91
Tabel 4.6 Interpretasi Spektra FTIR Fraksi Etil Asetat <i>Hydrilla verticillata</i>	94
Tabel 4.7 Interpretasi Spektra FTIR Fraksi Petroleum Eter <i>Hydrilla verticillata</i>	97
Tabel 4.8 Hasil Uji BNT Variasi Pelarut terhadap Zona Hambat.....	100
Tabel 4.9 Hasil Uji BNT Variasi Konsentrasi terhadap Zona Hambat.....	101

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Hydrilla verticillata</i>	11
Gambar 2.2 Dugaan Reaksi Hidrolisis Ikatan <i>O</i> -glikosida.....	17
Gambar 2.3 Reaksi penetralan antara HCl dan NaHCO ₃	17
Gambar 2.4 Struktur Dasar Sel Bakteri.....	20
Gambar 2.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Gambar 2.6 <i>Eschericia coli</i>	24
Gambar 2.7 Kurva Pertumbuhan <i>S. aureus</i>	26
Gambar 2.8 Kurva Pertumbuhan <i>E. coli</i>	27
Gambar 2.9 Senyawa Triterpenoid	35
Gambar 2.10 Struktur Inti Alkaloid	36
Gambar 2.11 Kerangka Dasar Flavonoid.....	37
Gambar 2.12 Struktur Inti Senyawa Steroid	38
Gambar 2.13 Struktur Inti Senyawa Tanin	39
Gambar 2.14 Struktur Inti Saponin	40
Gambar 4.1 Zona Hambat Ekstrak Metanol <i>Hydrilla verticillata</i> terhadap <i>E. coli</i> (A) dan Kontrol (B)	65
Gambar 4.2 Zona Hambat Fraksi Petroleum Eter <i>Hydrilla verticillata</i> terhadap <i>E. coli</i>	66
Gambar 4.3 Zona Hambat Fraksi Etil Asetat <i>Hydrilla verticillata</i> terhadap <i>E. coli</i>	67
Gambar 4.4 Zona Hambat Ekstrak Metanol <i>Hydrilla verticillata</i> terhadap <i>S. aureus</i> (A) dan control (B).....	69
Gambar 4.5 Zona Hambat Fraksi Petroleum Eter <i>Hydrilla verticillata</i> terhadap <i>S. aureus</i>	70
Gambar 4.6 Zona Hambat Fraksi Etil Asetat <i>Hydrilla verticillata</i> terhadap <i>S. aureus</i>	71
Gambar 4.7 Reaksi Dugaan Uji Triterpenoid (Siadi, 2012).....	77
Gambar 4.8 Dugaan Reaksi Steroid dengan Libermann-Burchard (Burke, dkk., 1974)	78
Gambar 4.9 Dugaan Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan Cl (Septyaningsih, 2010)	80
Gambar 4.10 Dugaan Reaksi Tanin dengan FeCl ₃ (Sa'adah, 2010)	82
Gambar 4.11 Dugaan Reaksi Uji Saponin (Rusdi, 1990)	83
Gambar 4.12 Reaksi Uji Dragendroff (Ergina, dkk., 2014).....	84
Gambar 4.13 Reaksi Uji Meyer (Marliana, dkk., 2005)	85
Gambar 4.14 Hasil Spektra UV-Vis (a) Ekstrak Metanol, (b) Fraksi Etil Asetat, (c) Fraksi Petroleum Eter.....	86
Gambar 4.15 Hasil Spektrum FTIR Ekstrak Metanol <i>Hydrilla verticillata</i>	90
Gambar 4.16 Hasil Spektrum FTIR Fraksi Etil Asetat <i>Hydrilla verticillata</i>	93
Gambar 4.17 Hasil Spektrum FTIR Fraksi Petroleum Eter <i>Hydrilla verticillata</i> .	96

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rencana Penelitian	120
Lampiran 2. Diagram Alir	121
Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Larutan.	129
Lampiran 4. Data Pengamatan dan Perhitungan	134
Lampiran 5. Data Uji Aktivitas Antibakteri.....	137
Lampiran 6. Hasil Analisis dengan <i>Two Way Anova</i> (SPSS) dan Uji BNT <i>Anova</i>	139
Lampiran 7. Hasil Identifikasi Menggunakan UV-Vis dan FTIR.....	142
Lampiran 8. Dokumentasi.....	148



ABSTRAK

Jannah, M. 2020. **Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat dan Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol *Hydrilla Verticillata* terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.**

Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Pembimbing II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M. Sc

Kata Kunci: *Hydrilla Verticillata*, Antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Difusi Cakram

Hydrilla verticillata merupakan tumbuhan air yang banyak dijumpai di danau Ranu Grati Pasuruan. *H. verticillata* mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, salah satunya sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan petroleum eter *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* serta untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi. *Hydrilla verticillata* diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol kemudian dihidrolisis dengan HCl 2 N. Selanjutnya hasil hidrolisis dipartisi menggunakan pelarut etil asetat dan petroleum eter. Masing-masing fraksi diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram dengan variasi konsentrasi 250, 500, 750, 1000 dan 1250 µg/mL. Identifikasi senyawa aktif dilakukan dengan uji fitokimia dilanjutkan dengan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Hasil penelitian menunjukkan fraksi petroleum eter mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi, dengan nilai zona hambat tertinggi 6,1 mm terhadap bakteri *E.coli* dan 6,2 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Sedangkan nilai zona hambat pada fraksi etil asetat sebesar 5 mm terhadap bakteri *E. coli* dan 5,7 mm terhadap bakteri *S. aureus*. Hasil identifikasi golongan senyawa aktif fraksi petroleum eter menunjukkan adanya golongan senyawa steroid dan triterpenoid.

ABSTRACT

Jannah, M. 2020. **The Antibacterial Activity Fraction Test Ethyl Acetate and Petroleum Ether Methanol Extracts Hydrolysis Results *Hydrilla Verticillata* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria.**

Supervisor: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Supervisor II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M. Sc

Keywords: *Hydrilla Verticillata*, Antibacterial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Disc Diffusion.

Hydrilla verticillata is an aquatic plant that often found at Ranu Grati Pasuruan lake. *H. verticillata* contains several secondary metabolites which can be used as medicine, one of them as an antibacterial. The purpose of this research are to determine the antibacterial activity of ethyl acetate and petroleum ether fraction of *Hydrilla verticillata* against *E. coli* and *S. aureus* bacteria, and also to determine the class of active compounds contained in the fraction that has the highest antibacterial activity. *Hydrilla verticillata* was extracted using method with methanol solvent. The methanol extract hydrolyzed with HCl 2 N and partitioned using ethyl acetate and petroleum ether. The result of each fractions were tested antibacterial activity using the disk diffusion method with variations in concentration of 250, 500, 750, 1000 and 1250 µg/mL. Identification of active compounds was carried out by phytochemical testing and then identification using spectrophotometer UV-Vis and FTIR. The results showed the petroleum ether fraction has the highest antibacterial activity, with the highest inhibition zone values 6.1 mm against *E. coli* bacteria and 6.2 mm against *S. aureus* bacteria. While the inhibition zone values in the ethyl acetate fraction are 5 mm for *E. coli* bacteria and 5.7 mm for *S. aureus* bacteria. The results of the identification of the active class of petroleum ether fraction showed a group of steroid and triterpenoid compounds.

مستخلص البحث

جنه ، م. ٢٠٢٠. اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لحلات الإيثيل للجزء البترولي ونتائج التحلل المائي من مستخلص الميثانول *Hydrilla verticillata* لدى بكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*.
المشرف الأول: أ. غنائم فشى، الماجستير، والمشرف الثاني: لؤلؤة الحميدة العليا.

كلمات الرئيسية: *Hydrilla verticillata*، مضاد البكتريا ، *Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus*،
انتشار القرص

Hydrilla verticillata هو نبات مائي غالبًا يوجد في بحيرة رانو كراتي فاسوروان. يحتوي هذا النبات على بعض من المركبات الأيضية الثانوية الذي يفيدده لدواء. تحدف هذه البحث لمعرفة نشاط مضادالبكتيريا باستخدام جزء أسيتات إيثيل وأثير البترول *Hydrilla verticillata* لدى بكتيريا *E. coli* و *S. aureus*، ولمعرفة ففة المركبات النشطة الموجودة في الجزء الذي يحتوي على أعلى نشاط مضادالبكتريا. يستخرج *Hydrilla* بطريقة النقع باستخدام مذيب الميثانول ثم تحلله باستخدام HCl 2 N. ، ثم نتيجة التحلل المائي تقسم باستخدام أسيتات إيثيل وأثير بترولي. يختبر كل جزء لنشاط مضاد البكتريا باستخدام طريقة نشر القرص مع اختلافات التركيز ٢٥٠ ، ٥٠٠ ، ٧٥٠ ، ١٠٠٠ و ١٢٥٠ ميكروغرام / مل. ثم تكون تعرف المركبات النشطة بطريق اختبار كيميائي نباتي مستمرا بتعرف المجموعات الوظيفية باستخدام UV Vis و FITR . ونتيجة هذا البحث أن جزء أثير البترول كان له أعلى نشاط مضاد البكتريا، مع أعلى قيمة للمنطقة المتأخرة ١٤٦ ملم مدى ضد بكتيريا *E. coli* و ٢٤٦ ملم ضد بكتيريا *S. aureus*. أما قيمة منطقة التأخير في جزء أسيتات الإيثيل ٠،٥ مم لدى بكتيريا *E. coli* و ٧،٥ مم لدى بكتيريا *S. aureus*. نتيجة ففة النشطة لجزء أثير البترول تدلّ على وجود مركبات الستيرويد ومركبات ترايتيربينويد.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah Swt. menganugerahkan akal kepada manusia sebagai makhluk hidup untuk mengkaji tentang apa yang ada di langit dan di bumi, agar manusia senantiasa berpikir dan mencari manfaat maupun bahaya dari apa yang telah diciptakan Allah Swt., baik berupa benda hidup maupun benda mati. Allah Swt. berfirman dalam surat Ali ‘Imran ayat 190 – 191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۝ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا
 وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ
 النَّارِ ۝

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (190) “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka” (191).*

Akal merupakan pembeda antara hewan dan manusia yang bertujuan agar manusia dapat berpikir tentang segala sesuatu yang ada di bumi, kemudian dapat menganalisis hasil dari berpikir tersebut sehingga menghasilkan ilmu pengetahuan. Allah menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi ini dengan manfaatnya masing-masing yang penting sekali untuk dikaji, salah satunya adalah

tumbuhan. Sebagaimana firman Allah Swt. dalam surat Luqman ayat 10 sebagai berikut:

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرْوَاهَا ۗ وَالْأَرْضِ فِي الْوَاوِيَّ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا
مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik”

Kalimat terakhir pada ayat tersebut berarti tumbuhan dapat digunakan untuk segala sesuatu yang baik serta dapat dimanfaatkan. Menurut (Shihab, 2002), dalam kitab tafsir Al-Mishbah kata كَرِيمٍ pada bagian akhir ayat digunakan untuk menyifati suatu kebaikan berdasarkan objeknya. Sedangkan kata زَوْجٍ كَرِيمٍ berarti tumbuhan yang baik. Tafsir tersebut mengatakan bahwa tumbuhan yang baik adalah tumbuh subur, menghasilkan sesuatu yang diinginkan pemiliknya, dan bermanfaat untuk makhluk hidup lainnya seperti manusia dan hewan. Di antara tanaman yang termasuk dalam kategori baik adalah *Hydrilla verticillata*.

Hydrilla verticillata merupakan salah satu jenis tumbuhan air berwarna hijau yang tumbuh di bawah permukaan air. Tumbuhan ini berasal dari Uganda, Tanzania, Asia, Amerika Utara, Amerika selatan, dan Eropa (Crow dan Hellquist, 2000). Di Indonesia cukup banyak dijumpai di perairan danau, salah satunya adalah danau Ranu Grati Pasuruan. Berdasarkan hasil observasi, *Hydrilla verticillata* merupakan populasi yang mendominasi ekosistem di danau tersebut.

Kurangnya pengetahuan masyarakat terkait manfaat dari tumbuhan ini menjadikan mereka menganggap tumbuhan ini sebagai gulma, dan ancaman bagi ekosistem danau karena dapat menurunkan hasil tangkapan ikan. Meskipun keberadaannya di perairan kurang diharapkan, namun di sisi lain *Hydrilla verticillata* juga mempunyai banyak manfaat, di antaranya aktivitas antikanker, dan anti-inflamasi (Byju, dkk., 2013), antioksidan (Sulistiyani, 2018; Purwantoro, 2019; Fasya, dkk., 2020), antitumor (Byju, dkk., 2012; Ramesh, dkk., 2014), biosorben logam berat seperti Cd dan Cr (Phukan, dkk., 2015), antimalaria (Annie, dkk., 2016), antimikroba (Prabha dan Rajkumar, 2015), dan antibakteri (Praba dan Rajkumar, 2015; Pratama, 2017). Aktivitas tersebut berasal dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam *Hydrilla verticillata*. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Hydrilla verticillata* di antaranya alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan triterpenoid (Praba dan Rajkumar, 2015; Hafiz, 2017).

Saat ini *Hydrilla verticillata* cenderung banyak dimanfaatkan sebagai agen fitoremediasi. Pemanfaatan *Hydrilla verticillata* di bidang kesehatan masih kurang dikembangkan khususnya sebagai obat antibakteri. Di samping itu, penelitian terkait aktivitas antibakteri pada *Hydrilla verticillata* masih sangat sedikit dilakukan. Sehingga, perlu dilakukan penelitian ini untuk mendukung potensinya sebagai obat antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri pada tumbuhan *Hydrilla verticillata* mempunyai tujuan penting, yaitu untuk menanggulangi keberadaan bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit serta merugikan manusia. Penggunaan suatu bahan alam sebagai antibakteri alami memiliki kelebihan dibandingkan dengan antibakteri sintetis, karena mudah didapatkan dan tidak

menimbulkan efek samping yang dapat mengganggu kesehatan. Bakteri yang merugikan manusia karena bersifat patogen di antaranya adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit saluran pencernaan seperti disentri, endokarditis, dan diare. Sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan infeksi pada folikel rambut, luka, meningitis, bisul, dan pneumonia (Entjang, 2003). Bakteri *E. coli* merupakan salah satu contoh bakteri gram negatif sedangkan bakteri *S. aureus* merupakan bakteri gram positif. Kedua bakteri tersebut mempunyai struktur dinding sel yang berbeda sehingga menimbulkan perbedaan kesensitifan terhadap senyawa tertentu.

Penelitian terkait dengan uji aktivitas antibakteri *Hydrilla verticillata* sudah pernah dilakukan dengan pelarut n-heksana dan etanol pada penelitian Pratama (2017), uji antibakteri *Hydrilla verticillata* menghasilkan aktivitas daya hambat tertinggi pada bakteri *Bacillus subtilis* dengan pelarut n-heksana sebesar 11,6 mm dalam 2000 ppm, bakteri *Escherichia coli* dengan pelarut etanol 70% sebesar 12,8 mm dalam 2000 ppm dan bakteri *Vibrio colera* dengan pelarut etanol 70% sebesar 11,6 mm dalam 2000 ppm. Pada penelitian Prabha dan Rajkumar (2015) mengenai uji antibakteri hasil ekstrak etanol *Hydrilla verticillata* dengan variasi konsentrasi 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL, dan 1000 µg/mL menghasilkan zona hambat pada bakteri *Escherichia coli* berturut-turut sebesar 0 mm, 0 mm, 9 mm, dan 11 mm. sedangkan pada bakteri *Bacillus Substilis* dengan variasi konsentrasi 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL, dan 1000 µg/mL menghasilkan zona hambat berturut-turut sebesar 9 mm, 11 mm, 13 mm, dan 15 mm.

Kandungan senyawa aktif *Hydrilla verticillata* dapat diperoleh dengan cara ekstraksi maserasi. Maserasi digunakan karena metabolit sekunder umumnya tidak tahan terhadap suhu tinggi. Metode ini menggunakan alat yang sederhana sehingga mudah dilakukan serta aman. Prabha dan Rajkumar (2015) melakukan skrining fitokimia terhadap *Hydrilla verticillata* menggunakan pelarut polar, hasil pengujian menunjukkan adanya senyawa fenol, alkaloid, terpenoid, saponin, dan flavonoid. Amalia dkk (2018) juga melakukan skrining fitokimia terhadap *H. verticillata* menggunakan pelarut semi polar menunjukkan adanya senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid dan menggunakan pelarut non polar menunjukkan adanya senyawa steroid dan triterpenoid. Sedangkan Pal dan Nimse (2006) juga melakukan skrining terhadap *Hydrilla verticillata* menggunakan pelarut semipolar menunjukkan adanya senyawa β -karoten. Berdasarkan penjelasan tersebut, maka pemilihan pelarut berpengaruh terhadap senyawa metabolit sekunder yang didapatkan. Menurut Lenny (2006) pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses ekstraksi dan isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan seluruh metabolit sekunder. Selain itu metanol mempunyai titik didih yang rendah yaitu $64,7^{\circ}\text{C}$ sehingga mudah diuapkan (Atun, 2014). Hafiz (2017) telah melakukan ekstraksi maserasi *Hydrilla verticillata* menggunakan variasi pelarut yaitu metanol (polar), kloroform (semi polar) dan *n*-heksana (non polar). Hasil dari penelitiannya menyatakan bahwa pelarut metanol *hydrilla verticillata* menghasilkan rendemen yang lebih banyak (12,72%) dibandingkan ekstrak kloroform (4,96%) dan *n*-heksana (3,80%). Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan pelarut metanol untuk ekstraksi maserasi.

Pemisahan senyawa metabolit sekunder dalam penelitian ini dilakukan dengan cara hidrolisis menggunakan HCl 2 N dilanjutkan dengan partisi menggunakan pelarut yang berbeda yakni etil asetat dan petroleum eter. Pemilihan pelarut tersebut untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder berdasarkan sifat kepolarannya. Penelitian Miftahurrahmah (2012) dilakukan proses ekstraksi alga merah *Eucheuma spinosum* dengan pelarut metanol didapatkan rendemen sebesar 16,25 %, kemudian dilakukan proses hidrolisis menggunakan HCl 2 N dan partisi untuk mengekstrak metabolit sekunder dengan pelarut kloroform, etil asetat, butanol, petroleum eter dan n-heksana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak yang telah mengalami hidrolisis lebih besar dibandingkan sebelum hidrolisis. Diperoleh zona hambat terbesar yaitu 6,0 mm untuk bakteri *Escherichia coli* dan 5,5 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* pada pelarut petroleum eter dan untuk pelarut etil asetat diperoleh zona hambat 4 mm pada bakteri *Escherichia coli* serta 3 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan zona hambat ekstrak metanol (sebelum mengalami hidrolisis) untuk bakteri *Escherichia coli* sebesar 3 mm dan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 4 mm. Dalam hal ini, semakin besar diameter zona hambat dari suatu senyawa uji, semakin tinggi pula aktivitas antibakteri pada senyawa tersebut.

Adanya aktivitas antibakteri dari suatu bahan alam tentunya dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Berdasarkan penelitian Khoiriyah dkk (2014) tentang uji fitokimia dan aktivitas antibakteri menggunakan fraksi etil asetat, kloroform dan petroleum eter hasil hidrolisis ekstrak metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* didapatkan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi adalah etil asetat dengan senyawa yang

terkandung di dalamnya yaitu steroid. Sedangkan penelitian Utami (2014) tentang uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, kloroform, petroleum eter, dan n-heksana hasil hidrolisis ekstrak metanol Mikroalga *Chlorella sp.* didapatkan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi adalah petroleum eter dengan golongan senyawa yang terdapat di dalamnya adalah steroid.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait aktivitas antibakteri *Hydrilla verticillata*. Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* dengan metode difusi cakram kemudian identifikasi senyawa dalam fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi hasil dari uji fitokimia dengan menggunakan instrumen UV-Vis dan FTIR. Melalui penelitian ini diharapkan dapat mengetahui aktivitas antibakteri pada *Hydrilla verticillata*, serta diperoleh alternatif obat antibakteri sebagai salah satu pencegahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Dengan demikian pemanfaatan sumberdaya alam *Hydrilla verticillata* menjadi lebih maksimal serta memberikan manfaat bagi masyarakat.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan petroleum eter hasil hidrolisis ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*?
2. Golongan senyawa apa yang terdapat dalam fraksi hasil hidrolisis ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan petroleum eter hasil hidrolisis ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi hasil hidrolisis ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah *Hydrilla verticillata* dari Danau Ranu Grati Pasuruan.
2. Ekstraksi *Hydrilla verticillata* menggunakan maserasi dengan pelarut metanol p.a.
3. Hidrolisis ekstrak pekat menggunakan HCl 2N.
4. Ekstrak hasil hidrolisis dipartisi dengan pelarut etil asetat dan petroleum eter.
5. Metode pengujian aktivitas antibakteri menggunakan difusi cakram
6. Uji kualitatif golongan senyawa aktif dalam ekstrak *Hydrilla verticillata* dilakukan pada semua fraksi *Hydrilla verticillata*.
7. Identifikasi senyawa dan gugus fungsi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi masyarakat mengenai manfaat *Hydrilla verticillata* terutama di bidang farmakologi sebagai antibakteri.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bagi lembaga akademis mengenai aktivitas antibakteri *Hydrilla verticillata*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Hydrilla verticillata*

2.1.1 Deskripsi dan klasifikasi *Hydrilla verticillata*

Hydrilla verticillata merupakan rumput liar, agresif, ramping, hidup di air dan termasuk dalam famili *Hydrocharitaceae* yang ditemukan di Srilanka, India Selatan, Asia Tenggara, Australia, Eropa, dan Amerika Serikat. Tumbuhan ini berkembang biak secara vegetatif, tahan herbisida, mentolerir berbagai suhu air dan dapat beradaptasi dengan air di semua benua. *Hydrilla verticillata* dapat berfungsi sebagai tempat berlindung bagi ikan, berudu, katak, ular, dan kura-kura (Sumithran and Raj, 2013). *Hydrilla* tergolong sebagai gulma yang bersifat mengganggu karena pertumbuhannya yang sangat cepat. Keberadaannya yang banyak ini dapat merugikan nelayan karena dapat menurunkan hasil tangkapan ikan (Goltenboth, dkk., 2012).

Hydrilla verticillata memiliki batang berwarna hijau, tegak, bercabang, ramping, dan dapat tumbuh sepanjang 7 meter. Tumbuhan ini jarang memiliki bunga, biasanya bunga dapat tumbuh pada ketiak daun menuju permukaan air melalui tangkai bunga yang panjang, berwarna putih dengan 3 kelopak dan 3 mahkota. Daun *hydrilla* juga berwarna hijau dan tipis, dengan tepi berduri dan bergerigi. Memiliki akar yang lebarnya 2-4 mm serta panjang 6-20 mm. Setiap tiga atau empat helai daun tumbuh melingkar dan membentuk ruas-ruas pada batang tanaman. Tangkai daun berwarna hijau serta memiliki diameter 0,1 mm. Pelepah daun hidrilla biasanya berwarna merah dan memiliki satu duri di bawah

permukaannya (Marer dan Garbey, 2001). Tumbuhan *Hydrilla verticillata* dapat dilihat dari Gambar 2.1.



Gambar 2.1 *Hydrilla verticillata* (Urifah dkk, 2017)

Tumbuhan *Hydrilla verticillata* memiliki klasifikasi sebagai berikut (Ramesh, dkk., 2014):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Hydrocharitales
Famili	: Hydrocharitaceae
Genus	: Hydrilla
Spesies	: <i>Hydrilla verticillata</i> (L. f.) Royle

Pemanfaatan *Hydrilla verticillata* masih terbatas, yaitu sebagai media percobaan Ingenhousz, sumber hara pada budidaya kacang tanah, tempat berkembang biak ikan, dan sebagai hiasan akuarium (Suryandari dan sugianti, 2009). Tumbuhan ini biasanya dikenal dengan ganggang (Suryandari dan sugianti, 2009), ganggeng (Jawa), dan lumut air (Walukow, 2011). Menurut Hafiz (2017) *Hydrilla verticillata* banyak tumbuh di daerah perairan danau, seperti danau

Limboto, danau Sentani, danau Rawa Pening dan danau Ranu Grati.

2.1.2 Kandungan *Hydrilla verticillata*

Tumbuhan *Hydrilla verticillata* mempunyai kandungan nutrisi yang tinggi seperti saponin, polisakarida, β -karoten, asam amino, makronutrien, mikronutrien, antioksidan, dan agen detoksifikasi (Pal dan Nimse, 2006). Kandungan klorofilnya sebesar 4,43 mL/g, vitamin C 4,70 mg/30g, dan karotenoid 0,92 mL/g (Kurniawan, dkk., 2010). *Hydrilla verticillata* memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, dan antibakteri sehingga dapat mendukung sistem kekebalan tubuh (Ramesh, dkk., 2014). Fasya dkk (2020) mengatakan bahwa *H. verticillata* mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Berikut adalah kandungan nutrisi pada *Hydrilla verticillata* (Das, dkk., 2015):

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi pada *Hydrilla verticillata*

Nutrisi/Mineral	Jumlah (mg/10,5 gram)	Nutrisi/Mineral	Jumlah (mg/10,5 gram)
Vitamin B-1	26,25	Kalium	244,65
Vitamin B-2	0,084	Fosfor	29,74
Vitamin B-3	5,25	Besi	35,8
Vitamin B-5	11,36	Timah	6,3
Vitamin B-6	35,91	Tembaga	0,22
Vitamin B-12	1,05	Kobalt	0,43
Kalsium	1460,7	Molibdenum	14,7
Magnesium	76,13	β -karoten	29593 IU

Beberapa penelitian terkait uji fitokimia dari *Hydrilla verticillata* juga dilakukan, diantaranya terdapat senyawa phytol yang dapat berfungsi sebagai surfaktan anionik, adanya senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, dan terpenoid (Prabha, dkk., 2019). Byju, dkk., (2012) juga mengemukakan adanya

senyawa *phytol*, *3-octen-2-one*, *7-methyl, hexyl tetradecyl ester*, dan *2-hexadecenn-1-ol,3,5,11,15,tetramethyl*. Selain itu, menurut Prabha, dkk., (2015) *Hydrilla verticillata* juga mengandung asam linoleat, asam oktadekatrienoat dan asam heksadekanadioat. Ikfi (2017) menyebutkan bahwa terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol *Hydrilla verticillata*, diantaranya steroid, flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, dan tanin.

2.2 Ekstraksi Komponen aktif *Hydrilla verticillata*

Pemisahan senyawa metabolit sekunder pada tanaman *Hydrilla verticillata* dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan komponen (zat terlarut) dari larutannya dalam air oleh suatu pelarut lain yang tidak bercampur dengan air (Soebagio, dkk., 2005). Prinsip ekstraksi didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Khopkar, 2003).

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak bahan alam adalah metode maserasi. Maserasi yaitu metode ekstraksi dengan cara merendam bahan dalam pelarut dalam suhu ruangan atau tanpa pemanasan. Pelarut akan menembus dinding sel kemudian masuk ke dalam rongga sel yang mengandung sel aktif. Zat aktif akan larut berdasarkan sifat kepolaran masing-masing atau prinsip *like dissolve like*, di mana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Lenny, 2006). Pada proses maserasi perlu dilakukan pengadukan yang berfungsi untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk, sehingga akan tetap terjaga

adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di luar sel dengan di dalam sel (Jaya, 2007). Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Guenther, 2006).

Metode maserasi memiliki keuntungan, yaitu peralatannya mudah ditemukan serta pengerjaannya yang mudah (Mustofa, 2008). Metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga zat aktif yang terkandung di dalamnya tidak rusak (Voight, 1994). Penelitian yang dilakukan oleh Daud, dkk., (2011) mengemukakan bahwa aktivitas antioksidan daun jambu biji menggunakan ekstraksi maserasi lebih tinggi daripada ekstraksi soxhlet.

Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut yang akan digunakan. Secara umum pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses ekstraksi senyawa organik dari bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder (Darwis, 2000). Pemilihan pelarut yang tepat hendaknya mempunyai kriteria sebagai berikut: bersifat inert, titik didih yang rendah agar pelarut mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu tinggi, dapat melakukan persenyawaan yang sesuai dengan cukup cepat serta harganya terjangkau (Guenther, 2006).

Kelarutan suatu komponen tergantung pada derajat polaritas pelarut yang ditentukan oleh konstanta dielektrikum yang ditampilkan pada Tabel 2.2 (Mulyono, 2006; Fessenden dan Fessenden, 1982). Semakin besar konstanta dielektrikum suatu zat maka semakin polar. Kepolaran senyawa disebabkan oleh perbedaan keelektronegatifan antara dua atom yang berikatan, di mana semakin

besar perbedaan maka semakin polar senyawa tersebut (Sudarmadji, dkk., 1997).

Tabel 2.2 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis Pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Heksana	1,90	TL	68,7
Petroleum eter	2,28	TL	60,0
Benzena	2,38	TL	80,1
Toluena	4,81	TL	111
Kloroform	4,81	S	61,3
Etil asetat	6,02	S	77,1
Metil asetat	6,68	S	57,0
Metil klorida	9,08	S	39,75
Botanol	15,80	S	117,2
Propanol	20,10	L	97,22
Aseton	20,70	L	56,2
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64,0
Air	78,4	L	100

*Keterangan: TL = Tidak Larut; S = Sedikit Larut; L = Larut dalam berbagai proporsi

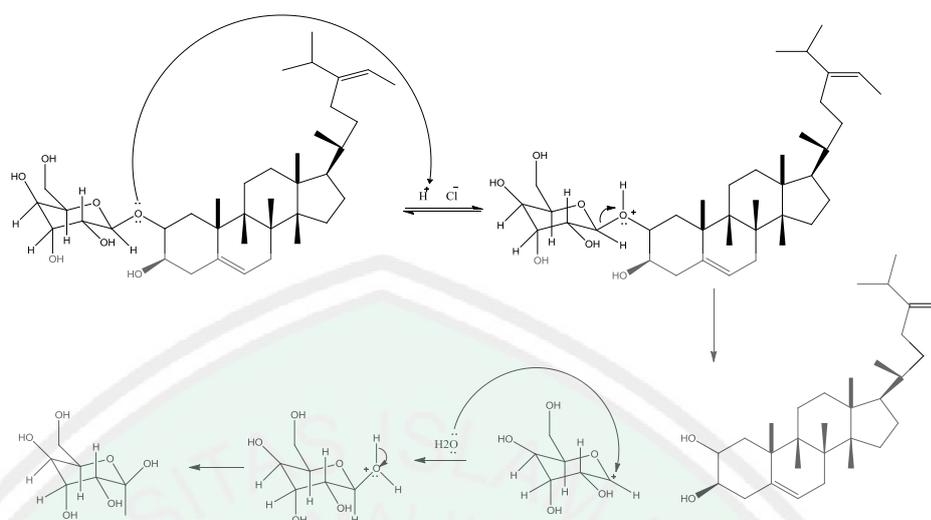
Proses ekstraksi maserasi ini menggunakan pelarut metanol. Metanol termasuk golongan alkohol yang mempunyai berat molekul rendah (Lenny, 2006). Kondisi ini mempermudah pembentukan ikatan hidrogen dengan molekul air jaringan bahan yang diekstrak sehingga senyawa-senyawa dalam jaringan bahan akan mudah terekstrak (Hart, 1987). Pemilihan pelarut ini tidak lepas dari penelitian-penelitian sebelumnya. Berdasarkan penelitian Hafiz, dkk., (2017) menyatakan bahwa ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* menghasilkan rendemen yang lebih banyak (12,72%) dibandingkan ekstrak kloroform (4,96%) dan *n*-heksana (3,80%) dan ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* juga mengandung senyawa steroid yang merupakan dugaan senyawa dengan toksisitas tertinggi terhadap *Artemia salina* Leach. Oleh karena itu, pelarut yang digunakan dalam

proses ekstraksi *Hydrilla verticillata* dan untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder.

2.3 Hidrolisis dan Partisi

Hidrolisis merupakan reaksi yang terjadi antara suatu senyawa dan air dengan membentuk reaksi kesetimbangan, selain bereaksi air juga berperan sebagai medium reaksi sedangkan senyawanya dapat berupa senyawa anorganik maupun senyawa organik (Mulyono, 2009). Senyawa-senyawa organik dalam tanaman umumnya berbentuk glikosida, yaitu senyawa yang terdiri dari gula (glikon) dan senyawa bukan gula (aglikon). Umumnya bagian glikon bersifat polar dan bagian aglikon bersifat polar, semi polar, dan non polar. Metabolit primer tergolong dalam senyawa glikon, sedangkan metabolit sekunder tergolong dalam senyawa aglikon (Didik, 2004). Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekundernya saja dapat dilakukan dengan pemutusan ikatan glikosida menggunakan reaksi hidrolisis (Fasya, dkk., 2020).

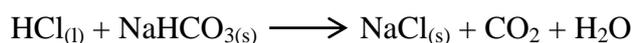
Reaksi hidrolisis yang menggunakan air berlangsung sangat lambat sehingga memerlukan bantuan katalisator (seperti asam) (Nihlati, dkk., 2008). Pengaruh penambahan asam (kuat atau lemah) pada sistem reaksi hidrolisis akan berpengaruh terhadap kekuatan pelepasan proton dari asam tersebut sehingga proton tersebut akan membantu dalam pemutusan ikatan glikosida. Semakin banyak proton yang terionisasi dalam air, maka semakin kuat peranan proton tersebut terhadap pemutusan ikatan glikosida (Handoko, 2006). Dengan demikian, penggunaan Asam klorida sering digunakan karena merupakan asam kuat. Berikut adalah dugaan reaksi hidrolisis ikatan O-glikosida :



Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Kristanti, dkk., 2008)

Menurut Wahyudi dkk., (2011) menggunakan asam kuat seperti HCl pada proses hidrolisis lebih baik dibandingkan dengan H₂SO₄ karena sifatnya yang lebih reaktif. Selain itu, katalisator HCl akan membentuk garam NaCl yang sifatnya tidak berbahaya (Nihlati, dkk., 2008). Pada penelitian ini digunakan asam kuat HCl 2 N, karena pada konsentrasi 2 N laju reaksi HCl lebih cepat (0,052 min⁻¹) dibandingkan dengan konsentrasi 1 N (0,036 min⁻¹) (Tasic, dkk., 2009).

Reaksi hidrolisis dihentikan dengan cara penetralan, yaitu dengan ditambahkan basa NaHCO₃. Penetralan dilakukan karena glikosida bersifat stabil pada kondisi netral (Fessenden dan Fessenden, 1986). Adapun reaksi penetralan sebagai berikut:



Gambar 2.3 Reaksi penetralan antara HCl dan NaHCO₃ (Mardiyah, 2012)

Miftahurrahmah (2012) melakukan ekstraksi alga merah *Euchema spinosum* menggunakan pelarut metanol, kemudian dilakukan perlakuan lebih lanjut yaitu hidrolisis menggunakan HCl 2 N dan diekstraksi cair-cair menggunakan variasi pelarut kloroform, etil asetat, butanol, petroleum eter, dan n-heksana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak yang telah dihidrolisis lebih besar dibandingkan sebelum hidrolisis, dengan diameter zona hambat tertinggi sebesar 6 mm untuk bakteri *E. coli* dan 5,5 mm untuk bakteri *S. aureus* pada pelarut petroleum eter dan diameter zona hambat ekstrak metanol (sebelum hidrolisis) untuk bakteri *E. coli* dan *S. aureus* yaitu 3 mm dan 4 mm.

Hasil hidrolisis dapat dipisahkan lebih lanjut dengan metode partisi menggunakan pelarut tertentu. Partisi atau ekstraksi cair-cair merupakan pemisahan komponen kimia di antara dua fase pelarut (pelarut organik dan air) yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua. Selanjutnya kedua fase yang mengandung zat terdispersi dilakukan pengocokan beberapa kali dan didiamkan hingga terjadi pemisahan secara sempurna dan membentuk dua lapisan fase cair. Senyawa kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu. Kesempurnaan ekstraksi tergantung pada banyaknya ekstraksi yang dilakukan. Hasil yang baik diperoleh apabila jumlah ekstraksi yang dilakukan berulang-ulang dengan penambahan jumlah pelarut sedikit demi sedikit (Khopkar, 2003).

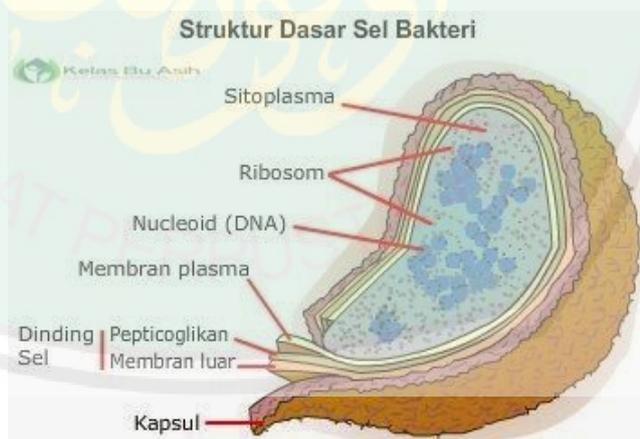
Berdasarkan penelitian Khoiriyah (2014) dan Utami (2014) senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri adalah steroid. Dalam hal ini steroid merupakan senyawa yang tergolong dalam senyawa lemak yang terdiri dari rantai karbon dengan 4 cincin, 3 cincin utama sikloheksana dan 1 cincin siklopentana (Kristanti, 2008), sehingga sebagian besar steroid bersifat non polar. Senyawa steroid memiliki beberapa aktivitas yaitu dapat menghambat pertumbuhan tumor pada hewan dan tumbuhan serta dapat menjadi racun bagi insekta, bakteri dan jamur (Vikrey dan Bickrey, 1981). Sedangkan menurut Alfiyaturrohmah (2013) metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas antibakteri diantaranya flavonoid dan steroid. (Miftahurrahmah, 2012) menyebutkan bahwa triterpenoid dan alkaloid juga mempunyai aktivitas antibakteri. Oleh karena itu untuk proses partisi dipilih jenis pelarut yang memiliki kepolaran yang sama dengan senyawa target atau hampir sama.

Penelitian Khoiriyah (2014) tentang uji fitokimia dan aktivitas antibakteri menggunakan fraksi etil asetat, kloroform dan petroleum eter hasil hidrolisis ekstrak metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* didapatkan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi adalah etil asetat dengan senyawa yang terkandung di dalamnya yaitu steroid. Sedangkan penelitian Utami (2014) tentang uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, kloroform, petroleum eter, dan n-heksana hasil hidrolisis ekstrak metanol Mikroalga *Chlorella sp.* didapatkan fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi adalah petroleum eter dengan golongan senyawa yang terdapat di dalamnya adalah steroid, yang berfungsi sebagai antibakteri.

2.4 Aktivitas Antibakteri

2.4.1 Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme yang berukuran mikroskopis. Sel-sel individu bakteri dapat berbentuk batang (basilus), elips atau bola (kokus), atau spiral (heliks). Mikroorganisme ini adalah sel prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang membatasi membran di dalam sitoplasmanya. Reproduksi terutama dengan pembelahan biner sederhana yaitu suatu aseksual. Ukuran bakteri bervariasi tetapi pada umumnya berdiameter sekitar 0,5 – 1,0 μm dan panjang 1,5 – 2,5 μm (Pelezar dan Chan, 2008). Bakteri berkembang biak dengan cara membelah diri, meskipun bersel satu tetapi mempunyai beberapa organel yang dapat digunakan untuk melaksanakan beberapa fungsi hidup (Waluyo, 2004). Struktur sel bakteri terdiri dari flagella, dinding sel, kapsul, dan sitoplasma. Gambar umum dari struktur sel bakteri yang terdiri atas bagian luar dan protoplasma dapat dilihat pada Gambar 2.4 berikut:



Gambar 2.4 Struktur dasar sel bakteri (Brooks, et al., 2005)

Membran sel merupakan membran pembungkus dari sitoplasma. Membran ini akan ikut menyusut bersama-sama dengan menyusutnya sitoplasma pada

waktu mengalami plasmolisis. Membran sitoplasma terdiri atas protein dan lipid (Dwidjoseputro, 2005). Membran tersebut sangat penting untuk sel dan mempunyai tiga fungsi utama yaitu sebagai sistem transport aktif, menyediakan tempat untuk reaksi enzim serta memelihara tekanan osmosis intraseluler. Sitoplasma adalah suatu koloid yang karbohidrat, protein, enzim-enzim, juga belerang, kalsium karbonat, dan *volutin* (Dwidjoseputro, 2005).

Bakteri memiliki dinding sel yang berfungsi untuk menentukan bentuk sel. Asam teikhoik dan lipopolisakarida merupakan komponen dari dinding sel yang berfungsi untuk melindungi sel dari lisis enzim. Kekakuan dan kekuatan dinding sel itu terutama disebabkan oleh serat-serat yang kuat yang umumnya tersusun dari peptidoglikan (Irianto, 2006). Susunan kimiawi dan struktur peptidoglikan khas untuk setiap bakteri, sehingga perbedaan pada dinding sel inilah yang dimanfaatkan dalam mengelompokkan bakteri berdasarkan teknik pewarnaan gram. Berdasarkan teknik tersebut bakteri dibagi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Pelczar dan Chan, 2008).

Bakteri gram positif adalah bakteri yang pada proses pengecatan gram tetap mengikat warna cat pertama (gram A) karena tahan terhadap alkohol dan tidak mengikat warna cat yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri berwarna ungu. Bakteri gram negatif yaitu bakteri yang pada proses pengecatan gram warna cat yang pertama (gram A) dilunturkan karena tidak tahan terhadap alkohol dan mengikat warna yang kedua (warna kontras) sehingga bakteri berwarna merah (Pelczar dan Chan, 2008). Berikut adalah perbedaan antara bakteri gram positif dan negatif:

Tabel 2.3 Perbedaan bakteri gram positif dan negatif (Pelczar dan Chan, 1986)

Sifat	Perbedaan Relatif	
	Bakteri Gram Positif	Bakteri Gram Negatif
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%)	Kandungan lipid tinggi (11-22%)
Ketahanan terhadap penisilin	Lebih sensitive	Lebih tahan
Penghambatan oleh pewarna basa	Lebih dihambat	Kurang dihambat
Kebutuhan nutrisi	Kebanyakan spesies relatif kompleks	Kebanyakan spesies relatif sederhana
Ketahanan terhadap perlakuan fisik	Lebih tahan	Kurang tahan

2.4.1.1 Bakteri Gram Positif

Salah satu contoh bakteri gram positif adalah bakteri *Staphylococcus aureus* (Gambar 2.5). Bakteri ini bersifat patogen pada manusia. *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat dan berdiameter 0,8-1,0 mikron, tidak bergerak dan tidak berspora (Radji, 2011). Bakteri ini mempunyai dinding sel luar yang tebal yang terbuat dari polimer kompleks yang disebut peptidoglikan. Kandungan lipidnya rendah yaitu hanya sebesar 1-4% (Pelczar dan Chan, 2005). Sistem klasifikasinya sebagai berikut:

Divisi	: Prothopyta
Subdivisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Brooks, et al., 2005)



Gambar 2.5 *Staphylococcus aureus* (Brooks, et al., 2005)

Staphylococcus berasal dari kata *Staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan *coccus* yang berarti bulat, bakteri ini dapat memproduksi katalase (Brooks, et al., 2005). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit seperti: infeksi pada folikel rambut, bisul, infeksi pada luka, dan abses. Selain itu bakteri ini dapat menyebabkan penyakit seperti meningitis dan pneumonia (radang paru-paru). Pencegahan penyakit dilakukan dengan meningkatkan daya tahan tubuh (Entjang, 2003). Kisaran suhu pertumbuhan bakteri ini yakni 12-40°C dan suhu optimumnya adalah 35 C (Radji, 2011).

2.4.1.2 Bakteri Gram Negatif

Salah satu contoh bakteri gram negatif adalah bakteri *Escherichia coli*.

Bentuk bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 2.6. Adapun klasifikasi bakteri adalah sebagai berikut (Songer dan Post, 2005):

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2.6 *Escherichia coli* (Brooks, et al., 2005)

Dinding sel bakteri gram negatif tersusun atas tiga lapisan yaitu lapisan dalam (peptidoglikan), lapisan bagian luar terdiri dari dua lapisan (lipopolisakarida dan lipoprotein) (Irianto, 2006). Tempat yang paling sering terkena infeksi *Escherichia coli* adalah tempat-tempat lain di rongga perut, saluran kemih, dan saluran empedu. Bakteri ini juga menghasilkan enterotoksin penyebab diare. *Escherichia coli* memproduksi enterotoksin yang tahan panas dapat menyebabkan diare yang ringan, sedangkan enterotoksin yang tidak tahan

panas dapat menyebabkan sekresi air dan klorida ke dalam lumen usus, menghambat reabsorpsi natrium (Jawetz, dkk., 2005). Selain itu bakteri ini dapat menyebabkan pneumonia serta merupakan penyebab utama meningitis pada bayi yang baru lahir (Entjang, 2003).

2.4.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri

2.4.2.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri Secara Umum

Kurva pertumbuhan bakteri dibagi menjadi beberapa fase, yaitu (Jawetz, dkk., 2007):

1. Fase Lag

Pada fase ini sel-sel bakteri yang kekurangan metabolit dan enzim sebagai akibat keadaan yang tidak menguntungkan dalam pembiakan terdahulu, menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Disini dapat terlihat mulai bertambah besarnya ukuran sel.

2. Fase Eksponensial

Pada fase ini sel-sel mulai mengadakan perubahan bentuk dan jumlah meningkat sehingga kurva meningkat dengan tajam. Kegiatan metabolismenya tinggi dan lebih peka terhadap antibiotik. Faktor-faktor yang berpengaruh pada fase ini yaitu bentuk dan sifat mikroba terhadap lingkungannya, kandungan nutrient dalam medium, kadar oksigen, temperatur, cahaya, dan lain-lain.

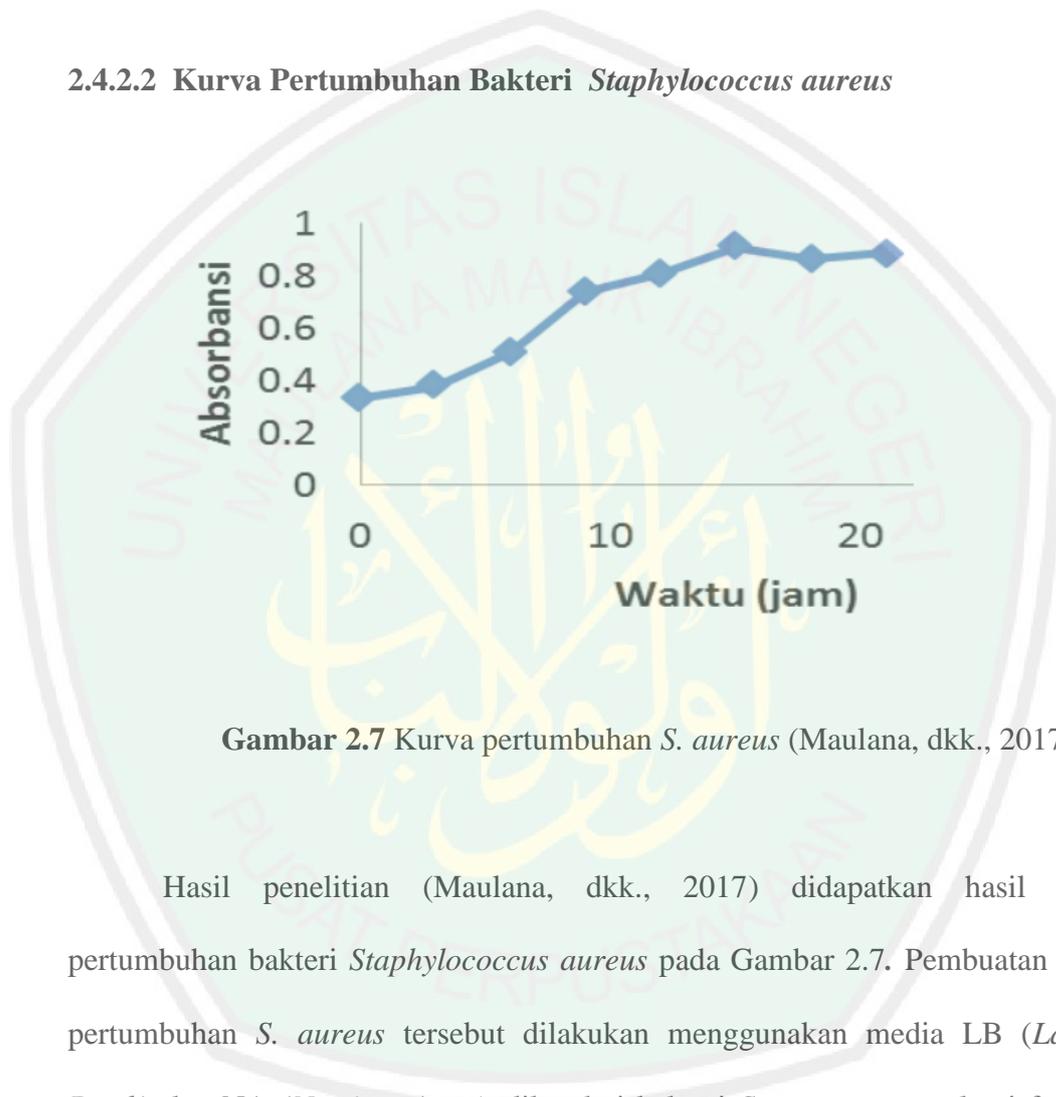
3. Fase Stationer

Pada fase ini berkurangnya zat-zat makanan dalam perbenihan atau penumpukan hasil metabolisme beracun menyebabkan pertumbuhan terhenti, sehingga gambaran grafik akan mendatar.

4. Fase Kematian

Merupakan akhir dari suatu kurva, dimana jumlah individu secara tajam menurun. Habisnya zat makanan dan menumpuknya zat beracun mengakibatkan matinya sel-sel mikroba.

2.4.2.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*



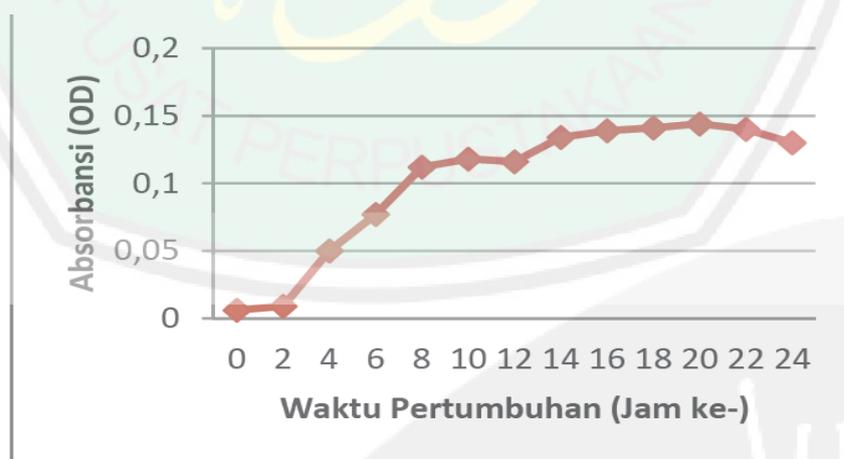
Gambar 2.7 Kurva pertumbuhan *S. aureus* (Maulana, dkk., 2017)

Hasil penelitian (Maulana, dkk., 2017) didapatkan hasil kurva pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada Gambar 2.7. Pembuatan kurva pertumbuhan *S. aureus* tersebut dilakukan menggunakan media LB (*Lactose Broth*) dan NA (*Nutrient Agar*), diketahui bakteri *S. aureus* mengalami fase lag hingga jam ke-2. Fase lag yang lama disebabkan karena bakteri tersebut mengalami proses adaptasi terhadap lingkungannya yang cukup lama. Pada fase ini, tidak terdapat pertumbuhan populasi bakteri, hanya terjadi penambahan komposisi kimiawi dan pertambahan ukuran saja (Khodijah, et al., 2006). Setelah

melewati fase lag, kemudian pertumbuhan bakteri meningkat dan memasuki fase log. Pada fase log terjadi peningkatan jumlah sel karena bakteri telah beradaptasi dengan baik pada medianya. Kurva pertumbuhan akan terlihat meningkat dengan tajam. *S. aureus* mengalami fase log pada jam ke 6 hingga jam ke 18. Selanjutnya, bakteri mengalami fase stasioner, yaitu pertumbuhan kedua bakteri cenderung tetap dan tidak mengalami perubahan secara signifikan.

Menurut Parhusip (2006), pada fase log sel berada dalam kondisi aktivitas metabolisme tinggi (labil) sehingga lebih peka terhadap ekstrak sampel dan mudah rusak. Pada akhir fase log, biasanya sel melakukan adaptasi terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Laju metabolisme sel menurun agar nutrisi yang terbatas tersebut tidak cepat habis. Pada kondisi yang kurang menguntungkan ini sel akan memiliki resistensi tertinggi terhadap senyawa antibakteri (Purwoko 2009).

2.4.2.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*



Gambar 2.8 Kurva pertumbuhan *E. coli* (Kaitu, dkk., 2014)

Hasil penelitian (Kaitu, dkk., 2014) didapatkan hasil kurva pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada Gambar 2.8. Pembuatan kurva pertumbuhan *E. coli* tersebut dilakukan menggunakan media NA (*Nutrient Agar*) dan NB (*Nutrient Broth*), diketahui bakteri *E. coli* mengalami fase lag hingga jam ke-2. Pada fase ini, tidak terdapat pertumbuhan populasi bakteri, hanya terjadi penambahan komposisi kimiawi dan penambahan ukuran saja (Khodijah, et al., 2006). Setelah melewati fase lag, kemudian pertumbuhan bakteri meningkat dan memasuki fase log. Pada fase log terjadi peningkatan jumlah sel karena bakteri telah beradaptasi dengan baik pada medianya. Kurva pertumbuhan akan terlihat meningkat dengan tajam. *E. coli* mengalami fase log dari jam ke-2 hingga jam ke-14. Selanjutnya, bakteri mengalami fase stasioner dari jam ke-14 hingga jam ke-20, yaitu pertumbuhan kedua bakteri cenderung tetap dan tidak mengalami perubahan secara signifikan. Sedangkan fase kematian pada jam ke-20 hingga jam ke-24.

2.4.2.4 Media Pertumbuhan Bakteri

Penumbuhan dan pengembangbiakan suatu mikroorganisme memerlukan suatu media. Media harus mengandung semua zat yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya, antara lain senyawa organik (protein, karbohidrat, lemak), mineral dan vitamin. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi yang ada di dalam media berupa senyawa kecil yang diformulasikan untuk menyusun komponen sel. Media terbagi menjadi 2 golongan besar yaitu media hidup dan media mati (Waluyo, 2004):

1. Media hidup

Media hidup umumnya digunakan dalam laboratorium virologi untuk

pembiakan virus, sedangkan dalam laboratorium bakteriologi hanya beberapa kuman tertentu saja terutama pada hewan percobaan. Contoh media hidup diantaranya: telur berembrio, sel-sel biakan bakteri tertentu untuk penelitian bakteriofage (Waluyo, 2004).

2. Media mati

Media mati terbagi menjadi beberapa macam, yakni (Waluyo, 2004):

a. Media padat

Media padat diperoleh dengan cara menambahkan agar. Agar berasal dari ganggang/alga yang berfungsi sebagai bahan pematid. Alga digunakan karena bahan ini tidak diuraikan oleh mikroorganisme, dan dapat membeku pada suhu di atas 45 °C. Media padat terbagi menjadi media agar miring, dan agar deep.

b. Media setengah padat

Media setengah padat dibuat dengan bahan yang sama dengan media padat, akan tetapi berbeda komposisi agarnya. Media ini digunakan untuk melihat gerak mikroorganisme secara mikroskopik.

c. Media cair

Media cair juga dikenal sebagai media sintetik. Media sintetik merupakan media yang mempunyai kandungan dan isi bahan yang telah diketahui secara rinci. Media ini sering digunakan untuk mempelajari sifat genetika mikroorganisme.

2.4.3 Antibakteri

Antibakteri adalah bahan atau senyawa yang berfungsi untuk membasmi bakteri terutama bakteri patogen. Senyawa antibakteri harus memiliki sifat

toksitas selektif, yaitu berbahaya bagi parasit tetapi tidak berbahaya bagi inangnya (Xia, et al., 2010). Antibakteri merupakan senyawa khusus yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Antibakteri dapat berupa senyawa kimia sintetik atau produk alami. Antibakteri sintetik dapat dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya yang dibuat secara besar-besaran, sedangkan yang alami didapatkan langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa tersebut dengan melakukan proses ekstraksi. Senyawa antibakteri yang bersifat membunuh bakteri disebut bakterisidal, sedangkan senyawa bakteri yang bersifat menghambat bakteri disebut bakteristatik (Brock dan Madigan, 1991).

Terdapat antibakteri yang mempunyai spektrum luas, artinya antibakteri yang efektif digunakan bagi banyak spesies bakteri, baik basik, kokus maupun spiril. Ada juga yang mempunyai spectrum sempit, artinya hanya efektif digunakan pada spesies tertentu saja (Waluyo, 2004).

Pelczar dan Chan (1986) juga mengatakan bahwa makin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba akan semakin cepat sel mikroorganisme terbunuh atau terhambat pertumbuhannya. Aktivitas antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, jumlah mikroorganisme, pH, konsentrasi atau intensitas zat antimikroba, potensi suatu zat antimikroba dalam larutan yang diuji dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi antibakteri.

2.4.4 Mekanisme Kerja Senyawa Antibakteri

Menurut Waluyo (2004) dan Jawetz (2007), mekanisme kerja antibakteri dapat dilakukan dengan empat cara yaitu:

1. Penghambatan sintesis dinding sel

Sel bakteri dikelilingi oleh suatu struktur kaku yang disebut dinding sel, yang berfungsi melindungi protoplasma dibawahnya. Setiap zat yang mampu merusak dinding sel atau mencegah sintesisnya, menyebabkan terbentuknya sel-sel yang peka terhadap tekanan osmosis. Senyawa antibakteri bertindak dengan cara menghambat terjadinya reaksi peptidasi pada proses sintesis peptidoglikan sehingga dapat melemahkan dinding sel yang dapat membuat terjadi lisis.

2. Penghambatan sintesis protein

Sintesis protein merupakan hasil akhir dari dua proses utama, yakni transkripsi (sintesis asam ribonukleat) dan translasi (sintesis protein yang ARN-dependent). Antibakteri dapat menghambat sintesis protein, salah satu mekanisme penghambatan sintesis protein dilakukan adalah dengan menghambat perlekatan tRNA dan mRNA ke ribosom.

3. Perubahan fungsi membran plasma

Membran sel berperan penting dalam sel, yaitu menjadi penghalang permeabilitas selektif, mengendalikan susunan sel, dan melakukan pengangkutan aktif. Membran sel merupakan tempat berlangsungnya pernapasan dan aktivitas biosintetik tertentu dan mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel. Beberapa zat antibakteri dapat merusak atau melemahkan salah satu atau lebih dari fungsi-fungsi tersebut, akibatnya pertumbuhan sel akan terhambat atau mati. Disamping itu sebagai penghalang osmosis serta dapat mencegah berlangsungnya sejumlah biosintesis yang dibutuhkan di dalam membran sel.

4. Penghambatan sintesis asam nukleat

DNA, RNA, dan protein merupakan pemegang peranan sangat penting di

dalam proses kehidupan sel. Sehingga gangguan apapun yang terjadi pada penyusunan maupun fungsi-fungsi zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan ikatan yang sangat kuat pada enzim DNA Dependent dan RNA Polymerase bakteri sehingga menghambat sintesis RNA bakteri.

Hasil penelitian Khamidah (2013) ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp.* mengandung golongan senyawa steroid dan tanin hasil dari uji fitokimia. Menurut Morin dan Gorman (1995) senyawa steroid memiliki struktur lipofilik yaitu senyawa yang larut dalam lemak. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel bakteri rapuh dan lisis. Akibat lisis dari membran sel, senyawa yang terdapat dalam sitoplasma (seperti: inti sel, mesosom, protein dan lain-lain) akan keluar sehingga mengakibatkan kematian bakteri.

Menurut Nuria, dkk. (2009) mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat kerja enzim *reverse* transkriptase dan DNA sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Mekanisme tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktifkan adhesin sel (molekul yang menempel pada sel inang) bakteri yang terdapat pada permukaan sel. Tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel sehingga akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel. Hal ini akan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis, sehingga sel bakteri akan mati.

Praveena dan Padmini (2011) pada proses perusakan membran sel, ion H^+

dari senyawa fenol dan turunannya termasuk tanin akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk dari membran sel, sehingga membran akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan dalam pertumbuhan bahkan kematian.

2.4.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri merupakan teknik untuk mengukur besarnya potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme (Dart, 1996 dalam Ayu, 2004). Kepekaan bakteri terhadap senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri berbeda-beda. Bakteri gram positif biasanya lebih peka dibandingkan bakteri gram negatif (Brock dan Madigan, 1991).

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi atau difusi. Penting sekali untuk menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri (Jawetz, dkk., 2005).

1. Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan metode yang menggunakan antibakteri dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dari proses ini melarutkan antibakteri dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Keuntungan mikrodilusi cair adalah uji ini memberi

hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan (Jawetz, *et al.*, 1996).

2. Metode Difusi

Prinsip dari metode difusi cakram adalah senyawa antibakteri dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung senyawa antibakteri tertentu ditanam pada media pembenihan agar padat yang telah dicampur dengan bakteri yang diuji, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu, selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih/bening di sekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri (Jawetz, *et al.*, 1996). Berikut ini ketentuan kekuatan antibakteri (Yuningsih, 2007):

Tabel 2.4 Ketentuan kekuatan bakteri

Hambat diameter	Kekuatan daya hambat
≤5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥21 mm	Sangat kuat

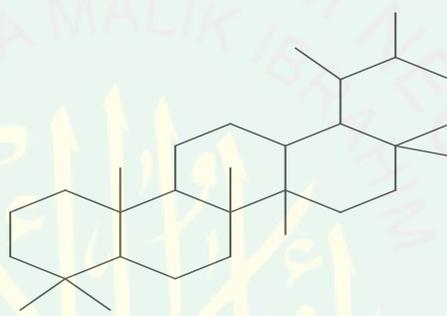
2.5 Identifikasi Senyawa Aktif *Hydrilla verticillata* dengan Uji Fitokimia

2.5.1 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau

terbentuk tidak sempurna (Ajizah, 2008).

Pereaksi Lieberman-Burchard secara umum digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa triterpenoid yang akan menghasilkan warna violet (Harborne, 1987). Bawa (2009) menyebutkan bahwa isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard akan menghasilkan perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua. Adapun struktur terpenoid dapat dilihat dari Gambar 2.9 berikut:



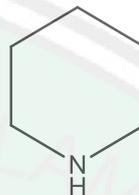
Ursana

Gambar 2.9 Senyawa triterpenoid (Robinson, 1995)

2.5.2 Alkaloid

Alkaloid mempunyai ciri khas yaitu mengandung paling sedikit 1 atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Kristanti, dkk., 2008). Uji alkaloid untuk menunjukkan adanya alkaloid dilakukan dengan menggunakan beberapa pereaksi, diantaranya adalah pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) dan Dragendorff (Robinson, 1995). Kedua pereaksi tersebut memberikan warna berturut-turut coklat dan jingga. Senyawa alkaloid ini berpotensi untuk digunakan sebagai antibakteri. Menurut Robinson (1995) mekanisme penghambatan bakteri oleh alkaloid yaitu alkaloid dapat

mengganggu terbentuknya jembatan seberang silang komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Struktur inti alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.10 berikut:



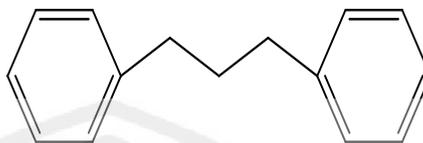
Gambar 2.10 Struktur inti alkaloid (Robinson, 1995)

2.5.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol yang tersebar luas di alam (Kristanti, dkk., 2008). Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$ yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Kerangka dasar flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.11. Flavonoid dikelompokkan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C_3 , sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat berfungsi sebagai antibakteri yang bekerja dengan cara mengganggu fungsi membran sitoplasma. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktifkan sistem enzim

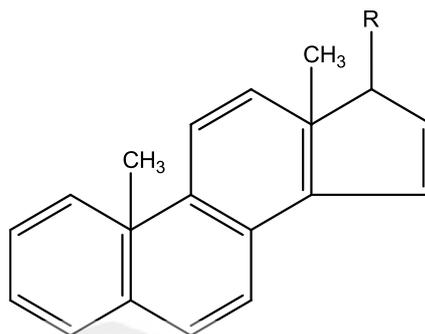
bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel (Volk dan Wheeler, 1993).



Gambar 2.11 Kerangka dasar flavonoid (Robinson, 1995)

2.5.4 Steroid

Steroid merupakan salah satu senyawa lipid yang dianggap sebagai derivat hidrosiklopentanofenantrena, yang terdiri atas 3 cincin sikloheksana terpadu seperti bentuk fenantrena (cincin A, B, dan C) dan sebuah cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (cincin D) (Poedjiadi, 1994). Struktur inti senyawa steroid dapat dilihat pada Gambar 2.12 . Steroid yang memiliki gugus hidroksil disebut dengan sterol. Semua sterol diduga hanya ada pada binatang, namun sekarang telah diketahui bahwa sterol juga terdapat dalam tumbuhan (*fitosterol*). Fitosterol ini berbeda secara struktural dengan sterol binatang. Perbedaannya terutama pada substitusi gugus metil dan etil (Febriany, 2004). Selain dalam bentuk bebasnya, sterol juga sering dijumpai sebagai glikosida atau sebagai ester dengan asam lemak. Glikosida sterol sering disebut sterolin (Kristanti, dkk., 2008).



Gambar 2.12 Struktur inti senyawa steroid (Poedjiadi, 1994)

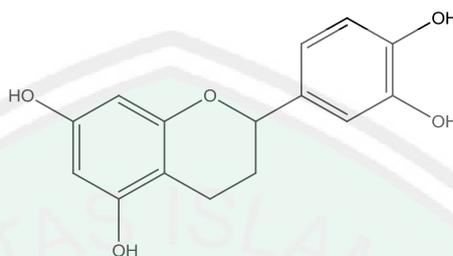
Steroid dapat digunakan sebagai antibakteri. Menurut Morin dan Gorman (1995) steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel bakteri yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun, morfologi membran berubah, dan akhirnya dapat menyebabkan membran sel bakteri rapuh dan lisis. Akibat lisis dari membran sel, dalam sitoplasma (seperti: inti sel, mesosom, protein dan lain-lain) akan keluar sehingga mengakibatkan kematian bakteri.

2.5.5 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Harborne, 1987).

Tanin dapat digunakan sebagai antibakteri dengan cara mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri.

Akibat terganggunya permeabilitas, maka sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Alamsjah, dkk., 2011). Adapun strukturnya dapat dilihat pada Gambar 2.13 berikut :

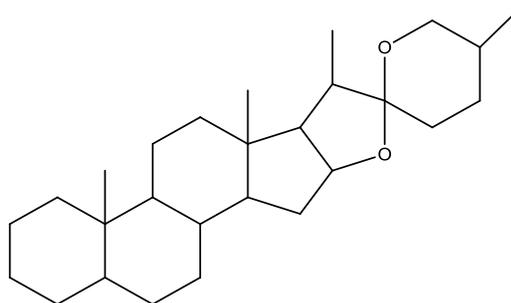


Gambar 2.13 Struktur inti senyawa tanin (Robinson, 1995)

2.5.6 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin “*sapo*” yang berarti sabun, karena sifatnya yang menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Saponin memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. Saponin dapat beracun untuk ikan selama beratus-ratus tahun (Robinson, 1995).

Senyawa saponin dapat bersifat sebagai antibakteri dengan cara merusak membran sel, rusaknya membran sel menyebabkan substansi penting keluar dari sel dan juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel. Jika fungsi membran sel rusak maka akan menyebabkan kematian sel (Monalisa, dkk., 2011). Berikut adalah struktur inti senyawa saponin:



Gambar 2.14 Struktur inti saponin (Robinson, 1995)

2.6 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis merupakan alat yang digunakan untuk menentukan konsentrasi senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200 – 400 nm) atau daerah sinar tampak (400 – 800 nm). Berkas radiasi dikenakan pada cuplikan atau larutan sampel selanjutnya intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap (Rohman, 2007). Analisis ini dapat menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa (Sastrohamidjojo, 2007).

Spektrum khas triterpenoid atau steroid yaitu pada panjang gelombang 205,60 (Mulyani, dkk., 2013). Alkaloid mempunyai serapan pada rentang 270 – 285 nm (Pramita, dkk., 2013). Flavonoid terdiri dari dua spektrum, rentang 240 – 285 nm pada pita II dan 300 – 550 nm pada pita I (Deskawi, dkk., 2015). Tanin mempunyai serapan khas pada panjang gelombang 280,5 nm (Rosyda dan Ersam, 2009). Sedangkan spektrum saponin pada panjang gelombang 210 – 215 nm (Peixoto, dkk., 2011).

Tabel 2.5 Tabel warna dan warna komplementer (Sastrohamidjojo, 2007)

Panjang Gelombang (nm)	Warna	Warna Komplementer
400 – 435	Violet (ungu)	Hijau Kekuningan
450 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru Kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau Kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu kemerahan
560 – 580	Hijau Kekuningan	Ungu
580 – 595	Jingga	Biru Kehijauan
595 – 610	Merah	Hijau Kebiruan
610 – 750	Ungu Kemerahan	Hijau

2.7 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektroskopi inframerah merupakan metode analisis instrumentasi pada senyawa kimia yang menggunakan radiasi sinar inframerah. Instrumen ini digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi senyawa serta menganalisa campuran (Day dan Underwood, 1986). Sinar inframerah dilewatkan melalui suatu cuplikan senyawa organik, sehingga sejumlah frekuensi diserap sedang frekuensi yang lain diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap.

Radiasi inframerah menyebabkan terjadinya vibrasi dari gugus fungsi suatu molekul. Vibrasi terjadi pada panjang gelombang 2,5 – 15 μm (4000 – 650 cm^{-1}) yang merupakan panjang gelombang umum alat spektrofotometer inframerah. Ikatan-ikatan yang berbeda (C-C, C=C, C \equiv C, C-O, C=O, O-H, N-H dan sebagainya) mempunyai frekuensi vibrasi yang berbeda dan adanya ikatan-ikatan tersebut dalam molekul organik menyebabkan senyawa-senyawa organik dapat diidentifikasi melalui frekuensi yang karakteristik sebagai pita serapan dalam spentrum inframerah (Sastrohamidjojo, 2007). Beberapa serapan dari berbagai gugus fungsi dapat dilihat pada Tabel 2.6 (Day dan Underwood, 1986):

Tabel 2.6 Tabel frekuensi inframerah

No.	Gugus	Frekuensi (cm ⁻¹)	Panjang Gelombang (nm)	
1	OH	Alkohol	3580 – 3650	2,74 – 2,79
		Berikatan H	3210 – 3550	2,82 – 3,12
		Asam	2500 – 2700	3,70 – 4,00
	NH	Amina	3300 – 3700	2,70 – 3,03
CH		Alkana	2850 – 2960	3,37 – 3,50
		Alkena	3010 – 3095	3,23 – 3,32
		Aromatik	~3300	3,03
	C≡C	Alkuna	2140 – 2260	4,42 – 4,76
C=C		Alkena	1620 – 1680	5,95 – 5,81
		Aromatik	~1600	~6,25
		C=O	Aldehida	1720 – 1740
		Keton	1675 – 1725	5,79 – 5,97
		Asam	1700 – 1725	5,79 – 87,0
		C≡N	Nitril	2000 – 2300

2.8 Pemanfaatan *Hydrilla verticillata* sebagai Antibakteri dalam Perspektif

Islam

Al-Qur'an merupakan mukjizat yang diberikan oleh Allah Swt. yang tidak bertentangan dengan penemuan-penemuan baru berdasarkan penelitian ilmiah.

Hal ini dijelaskan dalam firman Allah Swt. dalam surat Fussilat ayat 53:

سَنُرِيهِمْ آيَاتِنَا فِي الْأَفَاقِ وَفِي أَنْفُسِهِمْ حَتَّىٰ يَتَبَيَّنَ لَهُمْ أَنَّهُ الْحَقُّ ۗ أَوَلَمْ يَكْفِ بِرَبِّكَ أَنَّهُ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ

شَهِيدٌ

Artinya: “Kami akan memperlihatkan kepada mereka tanda-tanda (kekuasaan) Kami di segala wilayah bumi dan pada diri mereka sendiri, hingga jelas bagi mereka bahwa Al-Quran itu adalah benar. Tidaklah cukup bahwa sesungguhnya Tuhanmu menjadi saksi atas segala sesuatu”.

Al-Quran merupakan petunjuk yang tidak hanya memuat perintah-perintah agama saja, namun juga memuat isyarat-isyarat yang cukup dalam mengenai kajian ilmu-ilmu saintis. Adanya fakta-fakta ilmiah yang terdapat di dalam Al-

Quran merupakan mukjizat yang berfungsi sebagai bukti tentang keberadaan agama Islam itu sendiri, di antaranya yaitu mukjizat tentang tumbuhan-tumbuhan. Tumbuhan merupakan makhluk hidup ciptaan Allah Swt. yang mempunyai banyak sekali manfaat. Allah Swt. berfirman dalam surat al An'am ayat 99 yaitu:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ۝

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman”.

Dalam tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa Allah Swt. menurunkan air dari langit, lalu mengalirkan sebagai hujan dengan air itu, maka ditumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang hijau dan subur (Ad-Dimasyqi dan Al-Imran, 2001). Dan dikeluarkan dari tumbuh-tumbuhan yang hijau subur tersebut berbagai macam tumbuhan yang serupa dan yang tidak serupa. Serupa dalam bentuk, daun, dan buahnya, tetapi berbeda dalam warna buah dan rasanya, ada yang manis, masam, dan yang pahit. Semua itu menunjukkan kekuasaan Yang maha membuat dan kebijaksanaan Yang Mencipta (Al-Maraghi dan Musthafa, 1993).

Abdullah (2004) dalam bukunya Tafsir Ibnu Katsir menyatakan bahwa yang dimaksud dengan kata *undzuruu* pada ayat di atas adalah perintah untuk memperhatikan kekuasaan Allah Swt. yang telah menciptakan tumbuh-tumbuhan dari tidak ada menjadi ada. Dengan kata lain, segala sesuatu yang telah diciptakan oleh Allah Swt. harus lebih diperhatikan, baik terkait manfaat ataupun kandungan di dalamnya. Manusia diberikan kesempatan yang seluas-luasnya untuk mengambil manfaat dari tumbuh-tumbuhan tersebut. Salah satu tumbuhan yang diciptakan oleh Allah dan bisa kita ambil manfaatnya adalah *Hydrilla verticillata*.

Manusia dan tumbuh-tumbuhan sangat erat kaitanya dalam kehidupan. Banyak sekali manfaat yang diperoleh manusia dari tumbuh-tumbuhan namun masih banyak pula tumbuh-tumbuhan yang ada di sekitar kita belum diketahui manfaatnya. Keberadaan tumbuh-tumbuhan merupakan berkah dan nikmat Allah yang diberikan kepada seluruh makhluk-Nya. Allah menciptakan tumbuhan tidaklah sia-sia. Dalam satu tumbuhan memiliki beraneka ragam manfaat, bahkan jauh lebih banyak dari pada yang telah diketahui manusia. Di antara manfaat tumbuhan yang beraneka ragam, salah satunya yaitu digunakan sebagai obat untuk menyembuhkan penyakit. Setiap penyakit yang menimpa makhluk Allah pasti ada obatnya karena Allah Swt. telah menyiapkan segala macam obat untuk menyembuhkan penyakit. Sesuai sabda Rasulullah:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً ۝

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obat bersamanya*” (HR. Ahmad).

Hadits tersebut menjelaskan bahwa sesungguhnya setiap penyakit yang diturunkan oleh Allah selalu ada obatnya. Namun, manusia tetap harus berikhtiar untuk menemukan obat yang dapat menyembuhkan penyakitnya. Seperti halnya melakukan penelitian terhadap tumbuh-tumbuhan yang diduga mengandung senyawa-senyawa yang dapat berperan sebagai obat dari suatu penyakit, khususnya antibakteri. Dalam penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri pada tumbuhan *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Tumbuhan ini diduga mempunyai aktivitas antibakteri karena kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalamnya. Hal ini dibuktikan oleh penelitian dari Prabha dan Rajkumar (2015) bahwa *Hydrilla verticillata* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dan *B. substilis*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – April 2020 di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: erlenmeyer 1000 mL, neraca analitik, seperangkat alat gelas, oven, desikator, *hot plate*, cawan porselen, spatula, batang pengaduk, *shaker*, gelas arloji, *magnetic stirrer*, pompa vakum, corong *Buchner*, seperangkat *rotary evaporator vacuum*, cawan petri, mikro pipet, bola hisap, erlenmeyer vakum, corong gelas, corong pisah, statif, *laminar air flow*, autoklaf, bunsen, kuvet, *sentrifuge*, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, inkubator, penggaris, kertas saring, pinset, seperangkat alat FTIR, dan seperangkat alat spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Hydrilla verticillata* yang berasal dari Danau Ranu Grati, Pasuruan. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain metanol p.a, petroleum eter p.a, etil asetat p.a, HCl 2

N. Bahan-bahan yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri diantaranya adalah *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), kertas whatman no.1, akuades, tissue, kapas, plastik wrap, aluminium foil, biakan murni bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, spirtus, DMSO, penisilin dan streptomisin. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan untuk identifikasi golongan senyawa aktif diantaranya adalah reagen Mayer, reagen Dragendorff, serbuk Mg, metanol 50%, HCl 2%, kloroform, HCl pekat, asam asetat anhidrat, FeCl₃ 1%, HCl 1 N, aquades dan H₂SO₄ pekat.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian di laboratorium. Sampel yang digunakan adalah *Hydrilla verticillata* yang diambil dari danau Ranu Grati, Pasuruan. Tahap pertama yakni *Hydrilla verticillata* dipreparasi dengan cara dicuci bersih lalu dikeringanginkan di bawah sinar matahari tidak langsung atau pada suhu ruang (25–30 °C), setelah kering sampel dihaluskan untuk memperluas permukaannya dengan ukuran ±90 mesh. Kemudian dilakukan uji kadar air. Selanjutnya *Hydrilla verticillata* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol p.a dengan masa perendaman 24 jam dan pengulangan sebanyak 5 kali. Seluruh ekstrak dikumpulkan menjadi satu kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum*. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dihidrolisis dengan HCl 2 N kemudian dinetralkan dengan Na-bikarbonat. Tahap berikutnya, ekstrak kasar dipartisi dengan pelarut etil asetat dan petroleum eter. Lapisan organik dari hasil partisi dan ekstrak kasar metanol *Hydrilla* digunakan untuk uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli*

dan *S. aureus* secara duplo dan diulang sebanyak 3 kali dengan variasi konsentrasi yaitu:

$$K_1 = 250 \mu\text{g/mL} \quad K_3 = 750 \mu\text{g/mL} \quad K_5 = 1250 \mu\text{g/mL}$$

$$K_2 = 500 \mu\text{g/mL} \quad K_4 = 1000 \mu\text{g/mL}$$

Kemudian semua fraksi dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui adanya golongan senyawa aktif yang terkandung dalam *Hydrilla verticillata* yang mempunyai aktivitas tertinggi dan dilanjutkan dengan identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan-tahapan berikut:

1. Preparasi sampel
2. Penentuan kadar air secara termogravimetri
3. Ekstraksi senyawa aktif
4. Hidrolisis ekstrak metanol *Hydrilla verticillata*
5. Partisi ekstrak metanol *Hydrilla verticillata*
6. Uji aktivitas antibakteri
7. Identifikasi golongan senyawa aktif dalam *Hydrilla verticillata*
8. Identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di permukaan air Danau Ranu yang jarak antara permukaan dengan dasar airnya adalah ± 2 m. Sampel diambil sebanyak

11 Kg dan dicuci dengan air. Selanjutnya sampel dikeringkan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung atau pada suhu ruang (25 – 30 °C). Setelah kering, sampel dihaluskan dengan ukuran \pm 90 mesh di Materia Medika Kota Batu.

3.5.2 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri

Penentuan kadar air dilakukan secara termogravimetri yaitu dengan cara menentukan stabilitas termal suatu material dengan menghitung perubahan berat. Pertama-tama cawan porselen kosong dipanaskan dalam oven dengan suhu 100 – 105 °C selama 20 menit yang bertujuan untuk menghilangkan kadar airnya. Selanjutnya cawan dimasukkan dalam desikator selama 10 menit, lalu ditimbang hingga diperoleh berat cawan kosong konstan. Setelah itu, sampel ditimbang sebanyak 1 gram ke dalam cawan porselen kosong yang telah diperoleh berat konstan, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 100 – 105 °C selama \pm 30 menit. Selanjutnya sampel disimpan dalam desikator kembali sekitar 15 menit, lalu ditimbang. Perlakuan yang sama diulangi hingga diperoleh berat cawan berisi sampel yang konstan (Hafiz, 2017). Kadar air *Hydrilla verticillata* dihitung dengan menggunakan persamaan (3.1):

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

Keterangan: a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan

3.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstraksi senyawa aktif *Hydrilla verticillata* dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi. Ekstraksi ini dilakukan dengan cara menimbang sampel *Hydrilla verticillata* yang sudah dihaluskan sebanyak 100 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer tutup 1000 mL, kemudian sampel direndam dengan pelarut metanol p.a sebanyak 500 mL. Ekstraksi dilakukan dengan diiringi pengocokan menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan penyaringan dengan menggunakan corong Buchner. Residu yang diperoleh dimaserasi kembali hingga filtrat yang diperoleh bening. Filtrat yang diperoleh digabung menjadi satu lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* (Hafiz, 2017). Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan menggunakan persamaan berikut (Khopkar, 2003):

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

3.5.4 Hidrolisis Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

Hidrolisis ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* dilakukan dengan cara ditimbang masing-masing 5 gram ekstrak pekat metanol ke dalam 2 beaker glass yang berbeda lalu ditambahkan 10 mL HCl 2 N, kemudian distirer menggunakan *hot plate stirrer* selama 2 jam pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan natrium bikarbonat hingga pH netral (Khasanah, 2018).

3.5.5 Partisi Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

Masing-masing hidrolisat yang diperoleh dipartisi dengan pelarut etil asetat dan petroleum eter. Ekstrak hasil hidrolisis sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut petroleum eter sebanyak 25 mL. Selanjutnya dilakukan pengocokan selama 15 menit, lalu didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan organik dan lapisan air. Masing-masing lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Lapisan organik fraksi petroleum eter yang diperoleh ditampung dalam beaker glass dan lapisan air yang diperoleh dipartisi kembali dengan pelarut petroleum eter. Perlakuan ini diulang hingga 3 kali pengulangan. Lapisan organik yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatan dengan *rotary evaporator vacuum* hingga diperoleh fraksi pekat petroleum eter. Selanjutnya dilakukan hal yang sama untuk pelarut etil asetat. Fraksi pekat petroleum eter dan etil asetat yang diperoleh dikeringkan dengan dialiri gas N₂ sehingga diperoleh fraksi kering. Masing-masing fraksi kering ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan persamaan 3.2 (Khasanah, 2018).

3.5.6 Uji Aktivitas Antibakteri

3.5.6.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum semua peralatan digunakan, yaitu dengan cara menutup alat-alat yang akan disterilkan dengan alumunium foil atau kapas. Kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (per square inci) selama 15 menit (Utami, 2014). Alat-alat yang tidak tahan panas tinggi disterilkan dengan etanol 70% (Volk dan Wheeler, 1993).

3.5.6.2 Pembuatan Media

Pembuatan media NA (Nutrient Agar) dilakukan dengan cara melarutkan 2,3 gram nutrient agar dalam 100 ml akuades di dalam beaker glass kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup aluminium foil. Suspensi dipanaskan hingga mendidih lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi. Proses ini dilakukan secara aseptis dengan cara bagian ujung alat dipanaskan serta ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Media NA dalam tabung reaksi selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit, kemudian tabung reaksi diletakkan dalam posisi miring dan dibiarkan membeku pada suhu ruang selama 1 jam (Muhibah, 2013).

Pembuatan media NB (*Nutrient Broth*) dilakukan dengan melarutkan NB sebanyak 0,9 gram dalam 100 mL aquades di dalam erlenmeyer kemudian ditutup dengan aluminium foil. Suspensi dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan kapas dan dirapatkan kembali dengan plastik wrap. Proses ini dilakukan secara aseptik, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit (Muhibah, 2013).

3.5.6.3 Peremajaan Biakan Murni Bakteri

Biakan murni bakteri *E. coli* dan *S. aureus* diremajakan pada media NA dengan cara diambil 1 jarum ose, kemudian digoreskan secara aseptik pada media NA miring dengan mendekatkan mulut tabung pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Kemudian ditutup kembali tabung reaksi dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37 °C di dalam inkubator. Kemudian diletakkan dalam lemari

pendingin.

3.5.6.4 Pembuatan Larutan Biakan Bakteri (Inokulum)

Pembuatan larutan biakan bakteri dilakukan dengan cara, satu ose bakteri hasil peremajaan biakan murni *E. coli* dan *S. aureus* dibiakkan dalam 10 mL media cair (NB) steril dan dihomogenkan. Diinkubasi selama 8 jam untuk bakteri *S. aureus* dan *E. coli* pada suhu 37 °C. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif. Diukur OD yakni sebesar 0,5 pada panjang gelombang 620 nm (Muhibah, 2013).

3.5.6.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Larutan biakan aktif bakteri diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Kemudian media NA sebanyak 10 mL dipanaskan hingga mencair, lalu didinginkan sampai suhu 40 °C dan dituangkan dalam cawan petri yang berisi larutan biakan aktif bakteri. Selanjutnya dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram dengan diameter 5 mm direndam dalam masing-masing ekstrak *Hydrilla Verticillata* dan larutan kontrol. Proses peresapan dilakukan dengan cara kertas cakram dimasukkan ke dalam larutan kontrol positif (Kloramfenikol), larutan kontrol negatif (DMSO) dan larutan ekstrak *Hydrilla Verticillata* (konsentrasi 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL, 1000 µg/mL dan 1250 µg/mL). Kertas cakram tersebut diletakkan di permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Khoiriyah, 2014). Kemudian, diukur zona hambatnya dengan menggunakan penggaris (Volk dan Wheeler, 1993)

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pengulangan pada masing-masing konsentrasi sebanyak 3 kali. Pada penelitian ini digunakan kontrol positif kloramfenikol konsentrasi 250 µg/mL untuk bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Luas zona hambat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Zona hambat} = \text{diameter keseluruhan} - \text{diameter cakram} \dots \dots \dots (3.3)$$

3.5.7 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam *Hydrilla Verticillata*

Identifikasi golongan senyawa aktif atau uji fitokimia merupakan analisis kualitatif yang digunakan untuk mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan. Ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan petroleum eter akan dilakukan identifikasi kandungan kimia antara lain triterpenoid, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan tanin.

3.5.7.1 Uji Triterpenoid

Ekstrak *Hydrilla verticillata* 1 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform lalu ditambahkan sebanyak 0,5 mL asam asetat anhidrat. Kemudian ditambahkan 1 – 2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Apabila hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut, hal tersebut menunjukkan ada senyawa triterpenoid dalam sampel (Indrayani, dkk., 2006).

3.5.7.2 Uji Alkaloid

Ekstrak *Hydrilla verticillata* dimasukkan 1 mg ke dalam tabung reaksi, ditambah sebanyak 0,5 mL HCl 2 %, kemudian larutan dibagi menjadi dua tabung. Tabung I ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Dragendorff, tabung II

ditambahkan 2 – 3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan berwarna jingga sedangkan pada tabung II terbentuk endapan berwarna kekuning-kuningan, maka menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Indrayani, dkk., 2006).

3.5.7.3 Uji Flavonoid

Ekstrak *Hydrilla verticillata* dimasukkan 1 mg ke dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dalam 1 – 2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah serbuk Mg dan 4 – 5 tetes HCl pekat. Apabila terbentuk larutan berwarna merah atau jingga, maka menunjukkan adanya flavonoid (Indrayani, dkk., 2006).

3.5.7.4 Uji Steroid

Ekstrak *Hydrilla verticillata* dimasukkan 1 mg ke dalam tabung reaksi lalu dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditambahkan 1 – 2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Apabila terbentuk warna hijau kebiruan maka menunjukkan adanya steroid (Indrayani, dkk., 2006).

3.5.7.5 Uji Tanin

3.5.7.5.1 Uji dengan FeCl₃

Ekstrak *Hydrilla verticillata* dimasukkan 1 mg dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 2 – 3 tetes larutan FeCl₃ 1 %. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tua, maka bahan tersebut mengandung tanin (Khoiriyah, 2014).

3.5.7.5.2 Uji dengan Larutan Gelatin

Ekstrak *Hydrilla verticillata* dimasukkan 1 mg dalam tabung reaksi lalu ditambahkan larutan gelatin. Jika terbentuk endapan putih, maka menunjukkan adanya senyawa tanin (Khoiriyah, 2014).

3.5.7.6 Uji Saponin

Ekstrak dimasukkan 1 mg ke dalam tabung reaksi ditambah aquades 10 mL sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N 2 – 3 tetes. Jika busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1 – 3 cm, maka menunjukkan adanya golongan senyawa saponin (Pratomo, 2019).

3.5.8 Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan cara diambil 4 mL ekstrak *Hydrilla verticillata* yang dilarutkan sesuai pelarutnya. Kemudian dimasukkan kuvet hingga sepertiganya lalu dianalisis dalam kisaran panjang gelombang 200 – 800 nm sehingga terbentuk spektra. Selanjutnya ditandai panjang gelombang dan absorbansi pada puncak yang terbentuk (Maharani, dkk., 2016).

3.5.9 Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR

Identifikasi menggunakan FTIR dilakukan dengan cara diambil senyawa target (ekstrak *Hydrilla*) di gerus dengan garam KBr dengan perbandingan (2:98). Pelet dibuat dengan diameter 7mm lalu ditempatkan di *sample holder* dan diukur

serapannya dengan spektroskopi FTIR pada daerah $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Sampel yang dianalisis harus dipastikan dalam kondisi kering serta bebas dari kotoran sekitar wadah penampung (Sigeo, dkk., 2002).

3.5.10 Analisis Data

Data aktivitas antibakteri dianalisis ragam melalui uji ANOVA dua arah untuk menguji adanya pengaruh antar perlakuan variasi konsentrasi ekstrak *Hydrilla verticillata* dan variasi pelarut terhadap zona hambat yang dihasilkan. Apabila terdapat adanya pengaruh maka dilanjutkan dengan uji BNT dengan tingkat signifikansi 5% untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh atau berbeda nyata dengan perlakuan lain.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel *Hydrilla verticillata* dalam penelitian ini diperoleh dari danau Ranu Grati, Pasuruan. Proses preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan, dan penghalusan. Pencucian sampel bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Selanjutnya dilakukan pengeringan untuk mengurangi kandungan air dalam sampel serta mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama. Pengeringan tidak dilakukan menggunakan oven maupun sinar matahari langsung melainkan dengan cara kering angin, karena untuk menghindari kerusakan atau hilangnya senyawa aktif yang diinginkan. Menurut Robinson (1995) beberapa metabolit sekunder dapat rusak pada suhu tinggi.

Proses penghalusan sampel dilakukan agar luas permukaan sampel semakin besar sehingga kontak sampel dengan pelarut semakin maksimal (Deskawi, dkk., 2015). Semakin besar kontak antara serbuk sampel dengan pelarut dapat mempercepat rusaknya dinding sel, sehingga mempermudah pengambilan senyawa aktif oleh pelarut tertentu. Sampel kering *Hydrilla verticillata* yang telah digiling dan diayak dengan ukuran 90 mesh menghasilkan sebanyak 1,2 Kg serbuk kering dari 14 Kg sampel basah, sehingga didapatkan sekitar 8,5% serbuk kering dari sampel basah. Hal ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Salima (2019) yang menghasilkan 950 gram dari 10 Kg sampel basah atau 9% serbuk kering dari sampel basah *Hydrilla verticillata*.

4.2 Penentuan Kadar Air secara Termogravimetri

Kadar air suatu sampel memiliki pengaruh yang besar terhadap proses ekstraksi. Menurut Khoiriyah, dkk., (2014) nilai kadar air yang rendah dapat mempermudah penarikan senyawa aktif dalam sampel, karena pelarut akan mudah menembus dinding sel pada sampel tanpa gangguan dari molekul air. Selain itu kandungan air dalam sampel juga dapat mempengaruhi penyimpanan sampel. Sampel dengan kadar air yang rendah cenderung tidak mudah ditumbuhi mikroorganisme sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama dan tidak merusak komposisi kimia di dalamnya.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air sampel *Hydrilla verticillata*, diperoleh kadar air sebesar 7,67 % (Lampiran 4.1). Nilai kadar air pada sampel ini sesuai dengan standar yang ditentukan oleh Farmakope Indonesia, yang menyatakan bahwa kadar air dalam kesediaan obat tradisional tidak boleh melebihi 10 % (Departemen Kesehatan RI, 1994). Artinya kadar air sampel kering *Hydrilla verticillata* tidak melebihi ambang batas maksimum kadar air yang disyaratkan untuk proses ekstraksi.

4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstraksi pada *Hydrilla verticillata* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut polar yaitu metanol, yang mampu mengekstrak senyawa metabolit sekunder pada bahan alam yang masih terikat dengan gugus glikosida. Prinsip dari metode maserasi adalah pengekstrakan senyawa aktif yang dapat larut pada pelarut sesuai dengan tingkat kepolarannya. Metode ini dipilih sebagai metode ekstraksi *Hydrilla verticillata* karena ekstraksi maserasi tidak

menggunakan suhu tinggi/pemanasan sehingga tidak merusak komponen-komponen aktif dalam sel *Hydrilla verticillata*.

Pada proses maserasi, dilakukan proses shaker yang bertujuan untuk memaksimalkan kontak antara sampel dengan pelarut, sehingga pelarut dapat menembus dinding sel sampel dengan mudah serta meratakan pelarut agar dapat menyentuh seluruh bagian *Hydrilla verticillata* dengan baik. Proses maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang baru setiap kali pengulangan, dan dihentikan apabila warna filtrat dari sampel *Hydrilla verticillata* sudah mengalami perubahan warna yaitu lebih bening atau hijau pucat. Hal ini diasumsikan bahwa zat aktif yang berada pada sampel sudah terekstrak secara maksimal.

Ekstraksi *Hydrilla verticillata* ini dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* untuk menguapkan pelarut kemudian dialiri gas N₂ untuk menghilangkan sisa pelarut yang masih ada, sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol *Hydrilla verticillata* dengan rendemen sebesar 6,49 % (Lampiran 4.2.1). Hasil rendemen tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Khasanah (2018) yang menghasilkan rendemen untuk ekstrak metanol dari *Hydrilla verticillata* sebesar 6,5%.

4.4 Hidrolisis Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

Senyawa aktif pada tanaman umumnya terdapat dalam bentuk ikatan glikosida yaitu gabungan dari glikon (mengandung gugus gula) dan aglikon (senyawa metabolit sekunder). Hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida agar didapatkan senyawa metabolit sekunder secara maksimal tanpa adanya gugus gula. Pada proses ini dilakukan penambahan HCl 2N ke dalam

ekstrak *Hydrilla verticillata* sebagai katalis. Penggunaan asam kuat ini akan berpengaruh terhadap kekuatan pelepasan proton dari asam tersebut sehingga akan membantu dalam pemutusan ikatan glikosida (Handoko, 2006). Semakin banyak proton yang terionisasi dalam air, maka semakin kuat peranan proton tersebut dalam memutus ikatan glikosida. Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida ditunjukkan pada Gambar 2.2.

Reaksi hidrolisis ini bersifat *reversible* sehingga perlu dilakukan penetralan menggunakan NaHCO_3 jenuh untuk menghentikan reaksi hidrolisis yang ditandai dengan terbentuknya busa atau gelembung-gelembung yaitu gas CO_2 yang mengidentifikasi bahwa HCl dan NaHCO_3 sudah bereaksi. Reaksi penetralan yang terjadi ditunjukkan pada Gambar 2.3.

4.5 Partisi Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

Hidrolisat yang didapatkan selanjutnya dipartisi dengan variasi pelarut etil asetat dan petroleum eter Prinsip partisi atau ekstraksi cair-cair ini adalah pemisahan berdasarkan distribusi suatu zat diantara dua larutan yang tidak saling bercampur. Pada proses partisi akan didapatkan 2 lapisan yang tidak saling bercampur, hal ini disebabkan karena adanya perbedaan sifat kepolaran. 2 lapisan tersebut yaitu lapisan air dan lapisan organik yang diduga mengandung senyawa metabolit sekunder.

Tabel 4.1 Hasil Partisi dan Rendemen Masing-Masing Fraksi

Pelarut	Warna Filtrat	Warna ekstrak pekat	Rendemen (%)
Etil asetat	Hijau kecoklatan	Hijau kecoklatan	50,094%
Petroleum eter	Hijau kehitaman	Coklat kehitaman	48,550%

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa rendemen fraksi etil asetat lebih besar daripada fraksi petroleum eter. Dari hasil tersebut diduga bahwa kandungan golongan senyawa yang bersifat semipolar dalam *Hydrilla verticillata* lebih banyak dari pada senyawa nonpolar. Penelitian Khoiriyah (2014) juga menginformasikan bahwa rendemen hasil partisi ekstrak metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* menggunakan pelarut etil asetat sebesar 26,3% lebih besar daripada pelarut petroleum eter sebesar 25,3%.

4.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Prinsip dari metode ini adalah terdifusinya zat antibakteri yang berada pada kertas cakram menuju permukaan media agar yang telah ditanami bakteri uji. Bakteri akan terhambat pertumbuhannya dengan pengamatan terbentuknya zona bening di sekeliling kertas cakram. Semakin besar zona bening yang terbentuk maka semakin efektif zat tersebut sebagai antibakteri.

Zona hambat yang terbentuk dari kertas cakram yang berisi ekstrak akan dibandingkan dengan zona hambat dari kertas cakram yang berisi kontrol positif dan negatif. Kontrol positif digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri yang dihasilkan dari ekstrak *Hydrilla verticillata* dengan antibiotik sintetis/obat yang sudah ada. Dalam hal ini kontrol positif berupa kloramfenikol untuk bakteri

E.coli dan *S.aureus*. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif untuk bakteri karena termasuk dalam golongan antibiotik berspektrum luas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif (Octaviani, dkk., 2019). Sedangkan kontrol negatif yang digunakan berupa DMSO. Pelarut DMSO digunakan dalam penelitian ini karena DMSO dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar serta tidak mengganggu hasil pengamatan karena tidak memberikan aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri. Sehingga dapat dipastikan zona hambat yang terbentuk murni dari senyawa aktif yang terkandung dalam masing-masing fraksi.

Pengujian antibakteri ini dilakukan pada variasi konsentrasi 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750 µg/mL, 1000 µg/mL dan 1250 µg/mL, untuk mengetahui pengaruh dari pemberian konsentrasi fraksi atau ekstrak yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri. Davis dan Stout (2009) membagi kekuatan daya antibakteri menjadi 4 kategori, yaitu menghambat lemah (<5 mm), sedang (5 – 10 mm), kuat (10 – 20 mm), dan sangat kuat (>20 mm). Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, petroleum eter dan ekstrak metanol terhadap bakteri *E.coli* ditunjukkan pada Tabel 4.2.

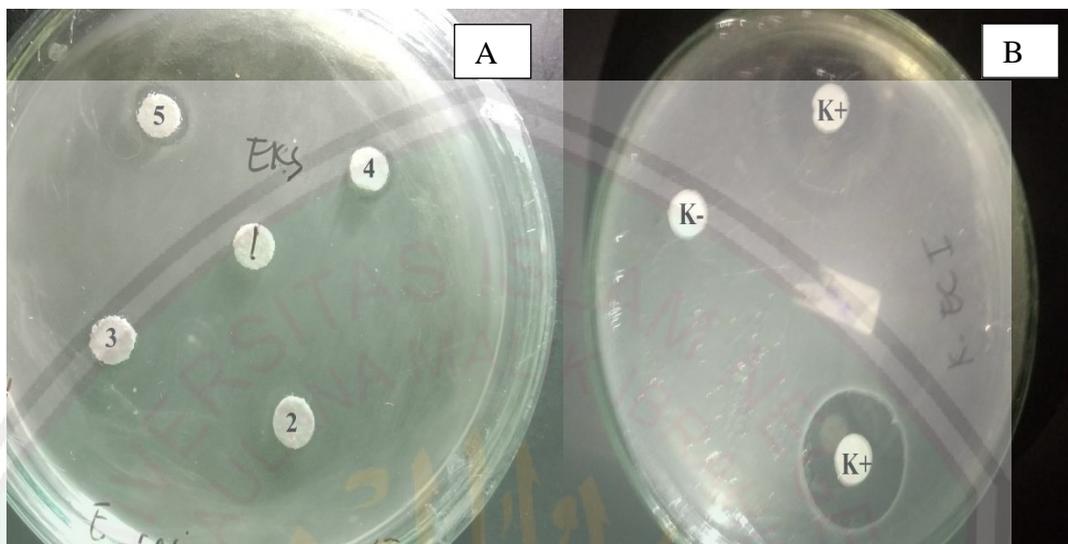
Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *E. coli*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata Zona Hambat (mm)		
	Ekstrak Metanol	Fraksi Petroleum Eter	Fraksi Etil Asetat
250	1,6	2,0	2,6
500	2,4	3,0	3,5
750	2,6	4,3	3,9
1000	3,0	5,6	4,2
1250	3,6	6,1	5
Kontrol positif (kloramfenikol 250)		12,3	
Kontrol negatif (DMSO)		0	

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui bahwa ekstrak *Hydrilla verticillata* setelah dihidrolisis kemudian dipartisi menggunakan pelarut etil asetat dan petroleum eter memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol (sebelum dihidrolisis) terhadap bakteri *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa melalui metode hidrolisis dan partisi akan diperoleh senyawa yang lebih memiliki aktivitas antibakteri. Kecilnya zona hambat pada ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* dapat disebabkan oleh kadar senyawa metabolit yang bersifat aktif sebagai antibakteri yang dimiliki ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* terlalu kecil terhadap total kandungan senyawa pada ekstrak tersebut.

Hal ini didukung oleh hasil uji fitokimia ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* yang positif mengandung 6 golongan senyawa, diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Total kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol yang masih banyak ini dikarenakan belum dilakukan pemisahan kandungan senyawa metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya. Dengan melakukan pemisahan kandungan senyawa metabolit sekunder diharapkan konsentrasi golongan senyawa pada masing-masing fraksi akan lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol, sehingga akan didapatkan

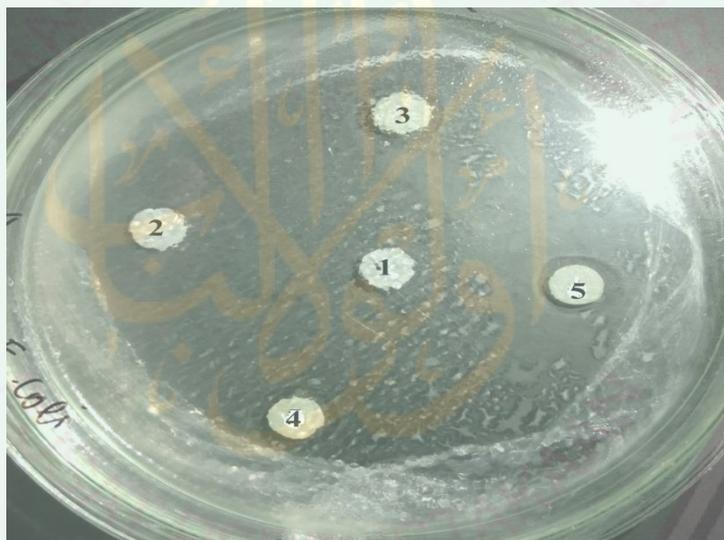
aktivitas yang lebih besar pula. Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 4.1 berikut:



Gambar 4.1 Zona Hambat Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata* terhadap *E. coli* (A) dan Kontrol (B)

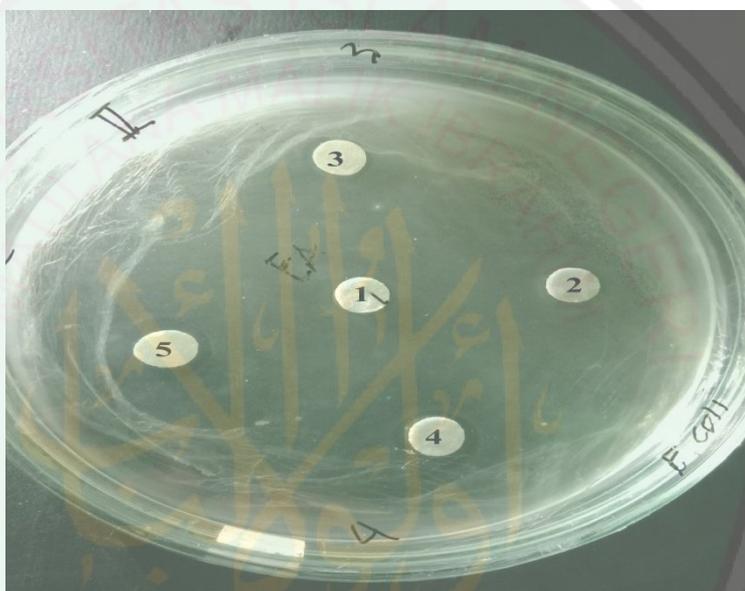
Berdasarkan Gambar 4.1 diketahui bahwa ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* memiliki zona hambat yang terus mengalami peningkatan dari konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ hingga 1250 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 1,6 mm hingga 3,6 mm. Ningtyas (2010) mengungkapkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak atau bahan antibiotik maka semakin banyak kandungan bahan aktif antibakterinya, artinya zona hambat yang dihasilkan semakin besar. Berdasarkan Tabel 4.2 dapat disimpulkan bahwa aktivitas tertinggi antibakteri ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* termasuk golongan lemah (<5 mm).

Fraksi petroleum eter memberikan aktivitas antibakteri yang paling baik dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan ekstrak metanol. Fraksi petroleum eter memiliki zona hambat tertinggi (6.1 mm) terhadap bakteri *E. coli* dibandingkan dengan pelarut etil asetat (5 mm). Hal tersebut dimungkinkan karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri cenderung terdistribusi ke dalam pelarut non polar. Kemampuan fraksi petroleum eter dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* semakin bertambah besar dengan semakin bertambahnya konsentrasi ekstrak/fraksi. Secara umum, semakin tinggi konsentrasi suatu senyawa antibakteri maka akan menghasilkan aktivitas yang semakin besar pula. Zona hambat yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 4.2 berikut:



Gambar 4.2 Zona Hambat Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata* terhadap *E. coli*

Zona hambat yang dihasilkan dari fraksi petroleum eter selalu mengalami peningkatan dari konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ hingga 1250 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan, aktivitas tertinggi antibakteri hasil partisi dengan pelarut petroleum eter ini termasuk golongan sedang (5 – 10 mm). Hal ini dapat disebabkan karena kecilnya konsentrasi ekstrak yang digunakan sehingga tidak menghasilkan aktivitas yang kuat. Sedangkan zona hambat yang dihasilkan fraksi etil asetat *Hydrilla verticillata* dapat dilihat pada Gambar 4.3:



Gambar 4.3 Zona Hambat Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata* terhadap *E. coli*

Zona hambat fraksi etil asetat *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *E. coli* didapatkan mengalami peningkatan dari konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ hingga 1250 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 2,6 mm sampai 5 mm. Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan, aktivitas tertinggi antibakteri hasil partisi dengan pelarut etil asetat ini termasuk golongan sedang (5 – 10 mm).

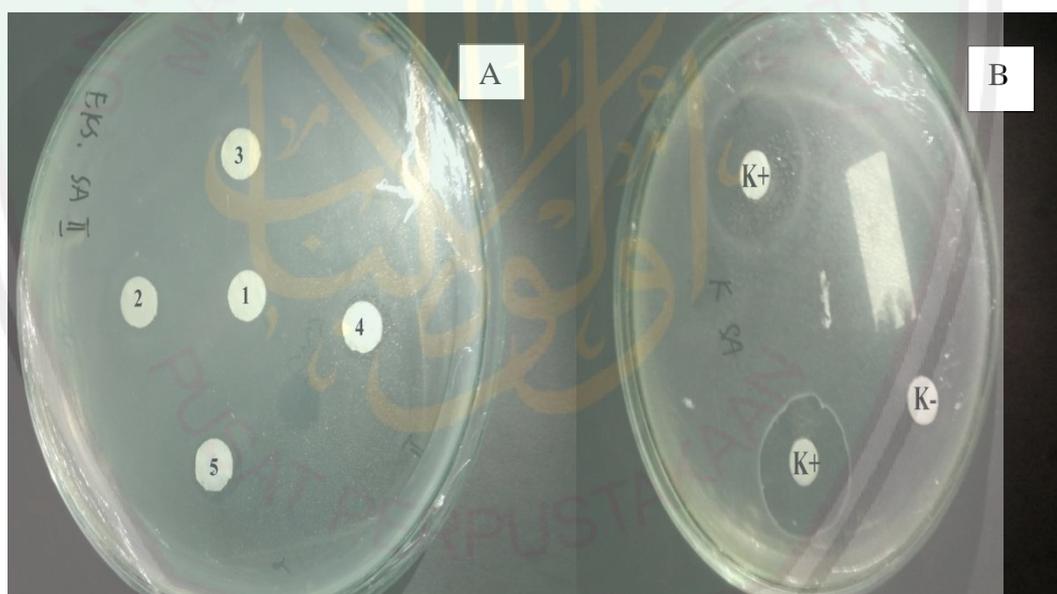
Berdasarkan uji fitokimia, fraksi etil asetat *Hydrilla verticillata* positif mengandung golongan steroid, triterpenoid dan flavonoid. Sedangkan fraksi

petroleum eter positif mengandung steroid dan triterpenoid. Hasil zona hambat fraksi petroleum eter lebih tinggi dibandingkan fraksi etil asetat. Hal ini dapat disebabkan karena senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi petroleum eter lebih efektif sebagai antibakteri dibandingkan dengan yang terkandung dalam fraksi etil asetat. Senyawa steroid dan triterpenoid yang terkandung dalam fraksi petroleum eter diduga lebih berpotensi sebagai antibakteri, dibandingkan dengan senyawa steroid dan triterpenoid yang terkandung di dalam fraksi etil asetat. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam fraksi etil asetat kemungkinan tidak saling support atau saling melemahkan sehingga menghasilkan aktivitas yang lebih kecil daripada fraksi petroleum eter. Sedangkan untuk hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 4.3 berikut:

Tabel 4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *S. aureus*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata Zona Hambat (mm)		
	Ekstrak Metanol	Fraksi Petroleum Eter	Fraksi Etil Asetat
250	1,6	2,4	1,5
500	2,6	3,0	2
750	3,2	4,1	3,1
1000	3,6	5,6	3,8
1250	4	6,2	5,7
Kontrol positif (kloramfenikol 250)		12,7	
Kontrol negatif (DMSO)		0	

Berdasarkan Tabel 4.3 diketahui bahwa ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* mempunyai aktivitas antibakteri lebih kecil dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan petroleum eter. Nilai zona hambat yang kecil disebabkan oleh kecilnya konsentrasi senyawa metabolit sekunder yang bersifat aktif sebagai antibakteri. Hal tersebut dikarenakan pada ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* ini masih terkandung banyak metabolit sekunder, serta belum dilakukan pemisahan yang nantinya dapat menghasilkan fraksi dengan konsentrasi golongan senyawa aktif yang mempunyai aktivitas lebih besar dari ekstrak metanol. Zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.4 berikut:



Gambar 4.4 Zona Hambat Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata* terhadap *S. aureus* (A) dan kontrol (B)

Berdasarkan Gambar 4.4 diketahui bahwa ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* memiliki zona hambat yang terus mengalami peningkatan dari konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ hingga 1250 $\mu\text{g/mL}$ sebesar 1,6 mm hingga 4 mm.

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa aktivitas tertinggi antibakteri ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* termasuk golongan lemah (<5 mm).

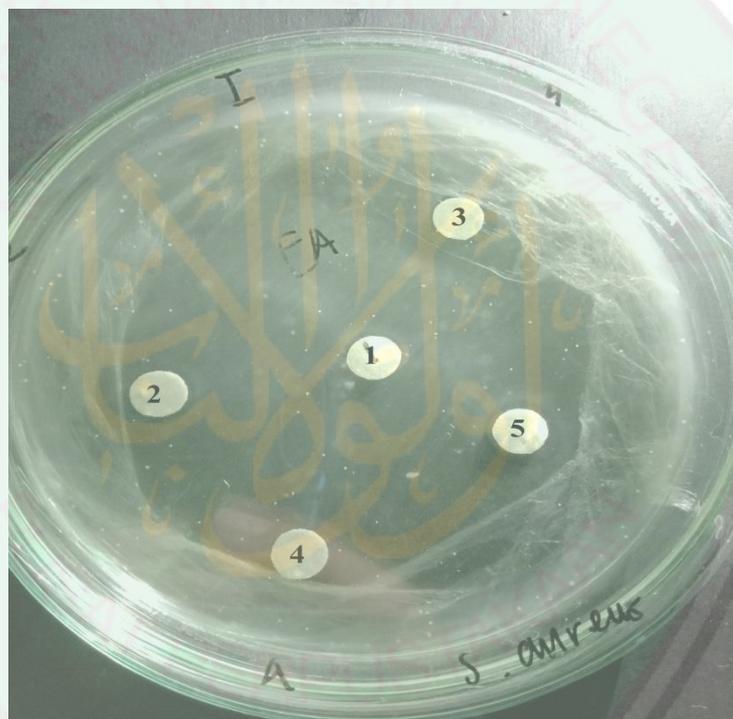
Sama halnya pada bakteri *E.coli*, fraksi petroleum eter memberikan aktivitas antibakteri yang paling tinggi dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *S. aureus*. Fraksi petroleum eter memiliki zona hambat tertinggi (6.2 mm) dibandingkan dengan pelarut etil asetat (5,7 mm). Hal tersebut dimungkinkan karena senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri cenderung terdistribusi ke dalam pelarut non polar. Zona hambat yang dihasilkan fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata* semakin besar dengan semakin bertambahnya konsentrasi, hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.5 berikut:



Gambar 4.5 Zona Hambat Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata* terhadap *S. aureus*

Zona hambat yang dihasilkan dari fraksi petroleum eter selalu mengalami peningkatan dari konsentrasi 250 $\mu\text{g/mL}$ hingga 1250 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan zona

hambat yang dihasilkan, aktivitas tertinggi antibakteri hasil partisi dengan pelarut petroleum eter ini termasuk golongan sedang (5 – 10 mm). Begitu juga dengan fraksi etil asetat *Hydrilla verticillata*, zona hambat yang dihasilkan mengalami peningkatan dari konsentrasi 250 µg/mL hingga 1250 µg/mL sebesar 1,5 mm sampai 5,7 mm. Berdasarkan zona hambat yang dihasilkan, aktivitas tertinggi antibakteri dari fraksi etil asetat *Hydrilla verticillata* ini termasuk golongan sedang (5 – 10 mm). Zona hambat yang dihasilkan dari fraksi etil asetat dapat dilihat pada Gambar 4.6 berikut:



Gambar 4.6 Zona Hambat Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata* terhadap *S. aureus*

Kontrol positif yang digunakan untuk bakteri *E.coli* dan *S aureus* adalah kloramfenikol. Kontrol positif digunakan sebagai tolak acuan pada penentuan keaktifan ekstrak sebagai antibakteri (Nurfadilah, 2013). Obat kloramfenikol

mempunyai aktivitas bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan pada konsentrasi tinggi juga bersifat bakteriosida (Dian, dkk., 2015). Hasil pengujian menunjukkan rata-rata zona hambat yang terbentuk pada kloramfenikol terhadap bakteri *E.coli* sebesar 12,3 mm dan bakteri *S. aureus* sebesar 12,7 mm, dimana keduanya termasuk dalam kategori kuat. Apabila dibandingkan dengan zona hambat ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata*, maka dapat diketahui bahwa zona hambat yang dihasilkan ekstrak dan fraksi *Hydrilla verticillata* lebih kecil dibandingkan zona hambat kontrol positif. Menurut Dian, dkk (2015) kloramfenikol dapat menghambat sintesis protein pada sel bakteri dengan cara mengikat ribosom yang menyebabkan sintesis protein terhenti.

Kontrol negatif berupa pelarut DMSO 100% yang merupakan pelarut untuk ekstrak metanol *Hydrilla verticillata*, fraksi etil asetat dan fraksi petroleum eter. Natheer, dkk (2012) mengatakan bahwa kontrol negatif adalah pelarut yang digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu. Dimetil Sulfoksida (DMSO) merupakan senyawa organosulfur yang dapat melarutkan baik senyawa polar dan nonpolar serta larut dalam berbagai pelarut organik maupun air (Pratiwi, 2008). Dari hasil pengujian menunjukkan bahwa kontrol negatif DMSO tidak memberikan daya hambat terhadap bakteri *E. coli* maupun bakteri *S. aureus*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa zona hambat yang terbentuk murni dari aktivitas senyawa aktif yang ada pada ekstrak atau fraksi *Hydrilla verticillata*.

Hasil dari penelitian ini, kekuatan senyawa antibakteri dari ekstrak dan fraksi *Hydrilla verticillata* secara berturut-turut adalah fraksi petroleum eter (sedang) > fraksi etil asetat (sedang) > ekstrak metanol (lemah). Berdasarkan zona

hambat yang dihasilkan aktivitas antibakteri *Hydrilla verticillata* lebih efektif untuk bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri *E.coli*. Hal ini disebabkan kedua bakteri ini memiliki perbedaan struktur dinding sel, sehingga menyebabkan perbedaan kesensitifan terhadap senyawa antibakteri tertentu. Menurut Irianti (2006) dinding sel bakteri *E. coli* (gram negatif) lebih tebal dibandingkan dengan bakteri *S. aureus* (gram positif), karena dinding sel bakteri *E. coli* terdiri atas peptidoglikan, lipopolisakarisa, dan lipoprotein sedangkan bakteri *S. aureus* dinding selnya tersusun atas peptidoglikan saja. Sehingga bakteri *S. aureus* lebih mudah dihambat pertumbuhannya atau zona hambatnya lebih kecil dibandingkan bakteri *E. coli*.

Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Utami (2014) yang menguji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat, kloroform, petroleum eter dan n-Heksana hasil hidrolisis ekstrak metanol mikroalga *Chlorella sp*, bahwa fraksi petroleum eter mempunyai aktivitas antibakteri lebih tinggi dibandingkan fraksi yang lainnya, adapun urutannya sebagai berikut: fraksi petroleum eter (kuat) > fraksi n-heksana (sedang) > fraksi etil asetat (sedang) > ekstrak metanol (tidak memiliki aktivitas). Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri fraksi yang bersifat non polar lebih efektif daripada semi polar. Begitu juga dengan perbedaan zona hambatnya, fraksi/ekstrak terhadap bakteri *S.aureus* mempunyai zona hambat lebih besar dari pada fraksi/ekstrak pada bakteri *E.coli*. Begitu juga pada penelitian khoiriyah (2014) bahwa zona hambat ekstrak terhadap bakteri *S. aureus* lebih besar dibandingkan dengan bakteri *E.coli*.

Prabha dan Rajkumar (2015) melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol *Hydrilla verticillata* dengan konsentrasi 250 µg/mL, 500 µg/mL, 750

$\mu\text{g/mL}$, 1000 $\mu\text{g/mL}$ terhadap bakteri gram negatif (*E. coli*) menghasilkan zona hambat berturut-turut 0 mm, 0 mm, 9 mm, 11 mm dan terhadap gram positif (*B. subtilis*) menghasilkan zona hambat 9 mm, 11 mm, 13 mm, dan 15 mm. Perbedaan hasil tersebut dengan hasil penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut yang digunakan, serta kondisi geografis ditumbuhkannya *Hydrilla verticillata* ini, karena kondisi geografis atau kesuburan perairan juga dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri yang dihasilkan.

4.7 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam *Hydrilla verticillata*

Identifikasi golongan senyawa aktif *Hydrilla verticillata* dilakukan secara kualitatif dengan uji fitokimia. Uji fitokimia pada penelitian ini merupakan dugaan awal untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam *Hydrilla verticillata* yang memberikan aktivitas antibakteri. Golongan senyawa aktif yang diuji meliputi triterpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Berdasarkan penelitian dan pengamatan diperoleh hasil uji fitokimia ekstrak dan fraksi *Hydrilla verticillata* pada Tabel 4.4:

Tabel 4.4 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak/Fraksi *Hydrilla verticillata*

Golongan senyawa aktif	Ekstrak/Fraksi <i>Hydrilla verticillata</i>		
	Ekstrak Metanol	Fraksi etil asetat	Fraksi petroleum eter
1. Triterpenoid	+	+	+
2. Steroid	+	+	+
3. Flavonoid	+	+	-
4. Tanin			
a. FeCl ₃	+	-	-
b. Gelatin	-	-	-
5. Saponin	+	-	-
6. Alkaloid			
a. Meyer	+	-	-
b. Dragendorff	+	-	-

Keterangan : Tanda + = Terkandung senyawa
Tanda - = Tidak terkandung senyawa

Hasil uji fitokimia pada Tabel 4.4 menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* diduga terdapat golongan senyawa triterpenoid, steroid, flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Adapun fraksi etil asetat diduga terdapat golongan senyawa triterpenoid, steroid, dan flavonoid. Sedangkan fraksi petroleum eter terdapat keberadaan senyawa steroid dan triterpenoid. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Amalia, dkk (2018) yang melakukan pemisahan senyawa aktif fraksi petroleum eter dan etil asetat hasil hidrolisis ekstrak etanol *Hydrilla verticillata* dari Ranu Grati Pasuruan. Didapatkan hasil uji fitokimia, dimana ekstrak etanol *Hydrilla verticillata* diduga mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan steroid. Fraksi petroleum eter mengandung steroid dan triterpenoid, sedangkan fraksi etil asetat mengandung flavonoid, steroid dan triterpenoid. Senyawa metabolit

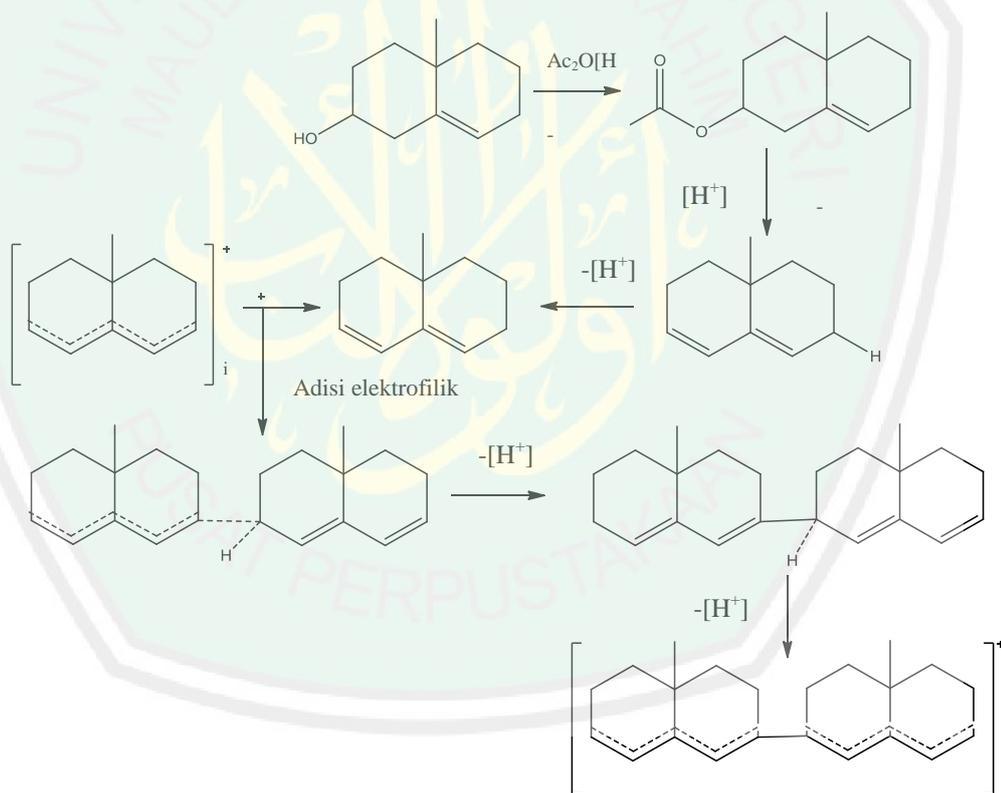
sekunder yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat dideskripsikan sebagai berikut:

4.7.1 Triterpenoid dan Steroid

Uji fitokimia golongan triterpenoid dan steroid dalam ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* dilakukan dengan penambahan kloroform, asam asetat anhidrat, dan asam sulfat atau dikenal sebagai reagen Liebermann-Burchard. Menurut Robinson (1995), ketika senyawa triterpenoid ditetesi pereaksi Liebermann-Burchard akan memberikan reaksi terbentuknya warna cincin kecoklatan, sedangkan steroid akan menghasilkan warna hijau kebiruan. Hal ini disebabkan oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asetat anhidrat. Perbedaan warna yang dihasilkan triterpenoid dan steroid disebabkan oleh perbedaan gugus pada atom C-4 (Marliana dan Saleh, 2011). Berdasarkan hasil uji fitokimia, diketahui bahwa ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata* mengandung golongan senyawa triterpenoid dan steroid. Hasil positif triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut saat ditambah H_2SO_4 . Perubahan warna ini terjadi karena adanya reaksi oksidasi pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi yang menghasilkan gugus kromofor. Hal ini disebabkan oleh adanya reaksi kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation.

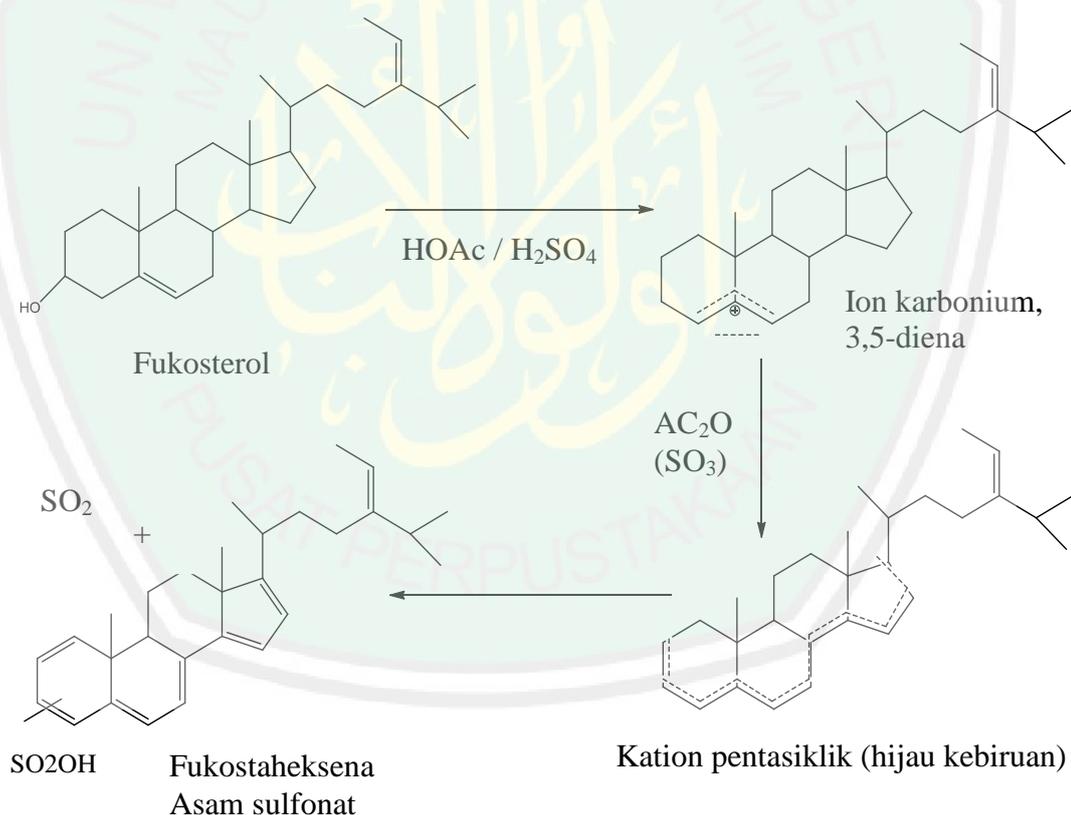
Reagen Liebermann-Burchard yang digunakan merupakan campuran dari anhidrida asetat dan H_2SO_4 pekat. Reaksi ini berawal dari proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asetat anhidrat. Selanjutnya gugus asetil (gugus pergi yang baik) akan lepas atau mengalami eliminasi sehingga membentuk ikatan

rangkap terkonjugasi. Kemudian terjadi pelepasan gugus hidrogen dengan elektronnya yang menyebabkan ikatan rangkap mengalami perpindahan. Senyawa akan mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation mengakibatkan adisi elektrofilik diikuti dengan pelepasan hidrogen. Eliminasi hidrogen ini mengakibatkan terjadinya penggabungan cincin segi enam tak jenuh sehingga ikatan rangkap terkonjugasi akan diperpanjang, lalu menghasilkan warna coklat pada triterpenoid yang mengabsorpsi spektrum dengan panjang gelombang tertentu (Siadi, 2012). Berikut persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.7:



Gambar 4.7 Reaksi Dugaan Uji Triterpenoid (Siadi, 2012)

Sedangkan hasil positif steroid ditandai dengan adanya perubahan warna larutan ekstrak/fraksi dari hijau kehitaman menjadi hijau kebiruan. Penambahan kloroform berfungsi untuk melarutkan senyawa steroid yang terkandung dalam sampel, sedangkan asam asetat anhidrat untuk membentuk gugus asetil (Alfiyaturrohmah, 2013). Menurut Mukhlisoh (2010), senyawa steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam dengan memberikan reaksi warna biru hingga hijau. Perubahan warna ini disebabkan oleh reaksi oksidasi golongan steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Sriwahyuni, 2010). Berikut dugaan reaksi steroid dengan pereaksi Liebermann-Burchard ditunjukkan pada Gambar 4.8:



Gambar 4.8 Dugaan Reaksi Steroid dengan Libermann-Burchard (Burke, dkk., 1974)

Triterpenoid dan steroid cenderung bersifat non polar, oleh karena itu kedua golongan senyawa ini lebih banyak larut dalam pelarut non polar seperti petroleum eter. Fraksi etil asetat *Hydrilla verticillata* juga positif mengandung triterpenoid dan steroid karena pelarut ini bersifat semi polar, namun kelarutannya lebih sedikit dibandingkan fraksi petroleum eter. Pada ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* juga positif mengandung golongan triterpenoid dan steroid, karena diduga pada ekstrak metanol kedua golongan senyawa ini masih terikat pada ikatan glikosidanya sehingga ikut terekstrak dalam metanol yang bersifat polar.

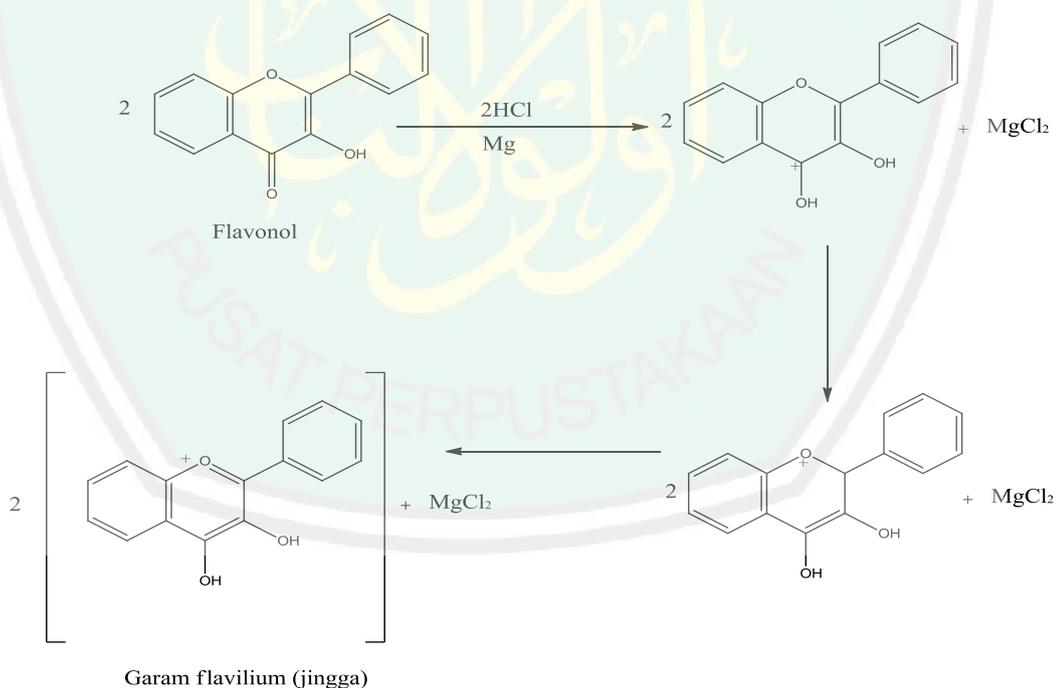
Pada penelitian ini diduga aktivitas antibakteri disebabkan oleh adanya kandungan golongan senyawa triterpenoid dan steroid. Farouk, dkk (2007) mengatakan bahwa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antimikroba dalam golongan atau turunan dari senyawa terpenoid, diantaranya triterpenoid dan steroid. Golongan triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel (Ajizah, 2008). Sedangkan menurut Morin dan Gorman (1995), senyawa steroid dapat bereaksi dengan fosfolipid membran sel bakteri yang menyebabkan integritas membrane menurun dan morfologi membrane berubah. Hal ini mengakibatkan membran sel rapuh dan sel mengalami lisis sehingga komponen penyusun sel keluar dan mengalami kematian.

4.7.2 Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara mengambil sedikit ekstrak dan fraksi *Hydrilla verticillata*, kemudian ditambahkan metanol 50% panas, serbuk Mg, dan HCl pekat. Fungsi penambahan metanol 50% panas adalah untuk melarutkan

sampel sedangkan penambahan HCl pekat untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil (Baud, 2014). Glikosil akan tergantikan oleh H⁺ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks garam flavilium yang berwarna merah, kuning, atau jingga pada flavonol, flavonon, flavanonol, dan zanton (Marliana dkk, 2006).

Hasil penelitian ini diketahui bahwa ekstrak metanol dan fraksi etil asetat *Hydrilla verticillata* positif mengandung flavonoid. Hal ini disebabkan karena flavonoid merupakan turunan senyawa fenolat. Senyawa fenol dengan gugus hidroksil semakin banyak memiliki tingkat kelarutan dalam air semakin besar atau bersifat polar sehingga dapat terekstrak dalam pelarut polar (Ergina, dkk., 2014). Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.9 berikut:

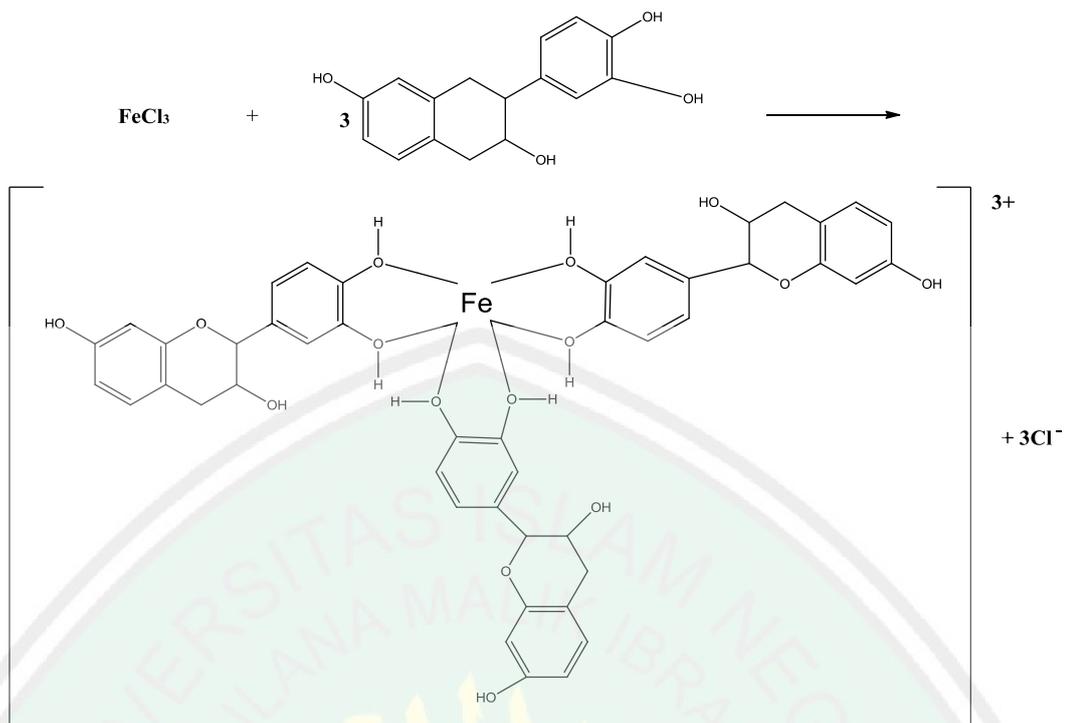


Gambar 4.9 Dugaan Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan Cl
(Septyaningsih, 2010)

4.7.3 Tanin

Pengujian golongan senyawa tanin ekstrak dan fraksi *Hydrilla verticillata* dilakukan menggunakan penambahan larutan FeCl_3 dan gelatin. Hasil uji fitokimia golongan senyawa tanin pada penelitian ini yang memberikan hasil positif adalah metode penambahan larutan FeCl_3 . Tanin digolongkan menjadi 2 bagian, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin yang mampu bereaksi dengan FeCl_3 adalah tanin terhidrolisis, dimana tanin jenis ini mampu mengkhelat logam (Utami, 2014).

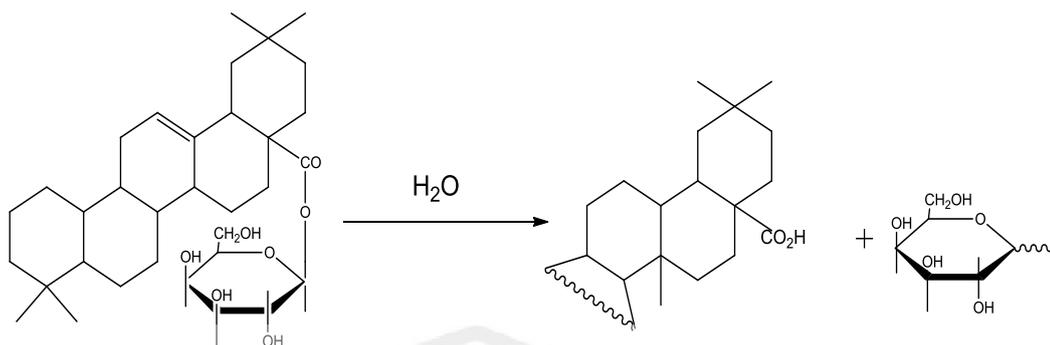
Ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* yang positif mengandung golongan senyawa tanin adalah ekstrak metanol *Hydrilla verticillata*. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna hijau atau biru tinta. Menurut Indarto (2015) tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang mampu mereduksi besi (III) menjadi besi (II). Uji fitokimia dengan penambahan FeCl_3 digunakan untuk menentukan apakah sampel mengandung gugus fenol, adanya gugus fenol ini ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan reagen FeCl_3 , hal ini dikarenakan tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Ergina, dkk., 2014). Dugaan reaksi antara tanin dan FeCl_3 dapat dilihat pada Gambar 4.10 berikut:



Gambar 4.10 Dugaan Reaksi Tanin dengan FeCl_3 (Sa'adah, 2010)

4.7.4 Saponin

Saponin dilakukan dengan uji busa, yaitu dengan penambahan air dan dilakukan pengocokan. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan timbulnya busa yang bertahan selama 10 menit. Pada penelitian ini ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* yang positif mengandung golongan senyawa saponin adalah ekstrak metanol *Hydrilla verticillata*. Saponin merupakan suatu glikosida dengan gugus hidroksil pada molekulnya dan mengandung gugus hidrofilik dan hidrofobik. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana, dkk., 2005). Reaksi yang mungkin terjadi pada uji saponin dapat dilihat pada Gambar 4.11 berikut:



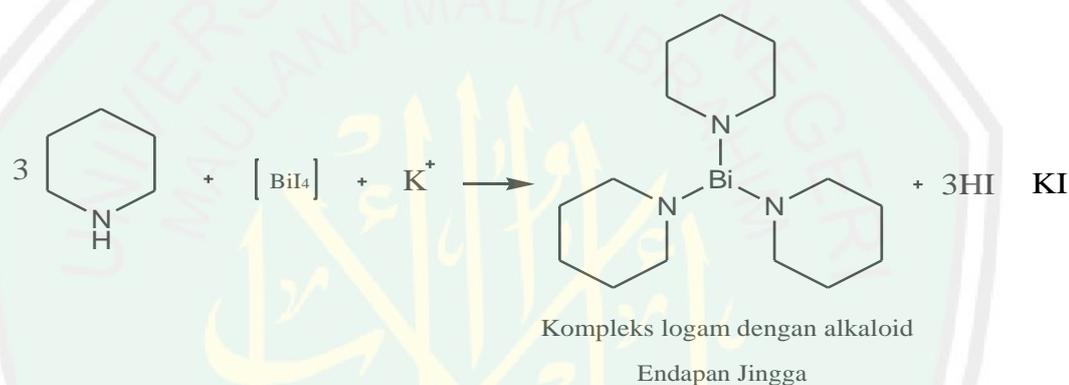
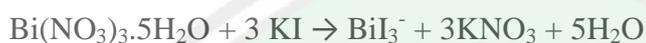
Gambar 4.11 Dugaan Reaksi Uji Saponin (Rusdi, 1990)

4.7.5 Alkaloid

Uji alkaloid *Hydrilla verticillata* dilakukan menggunakan reagen Dragendorff dan reagen Mayer. Pengujian ini dilakukan dengan penambahan HCl terlebih dahulu sebelum ditambahkan reagen atau pereaksi, karena alkaloid bersifat basa sehingga diekstrak dengan pelarut yang mengandung asam (Harbone, 1996). Penambahan HCl bertujuan untuk meningkatkan kelarutan alkaloid, karena senyawa alkaloid akan bereaksi dengan asam klorida kemudian membentuk garam yang mudah larut dalam air (Harbone, 1987). Hasil positif alkaloid dengan reagen Dragendorff ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga, sedangkan hasil positif alkaloid dengan reagen Mayer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna kekuning-kuningan.

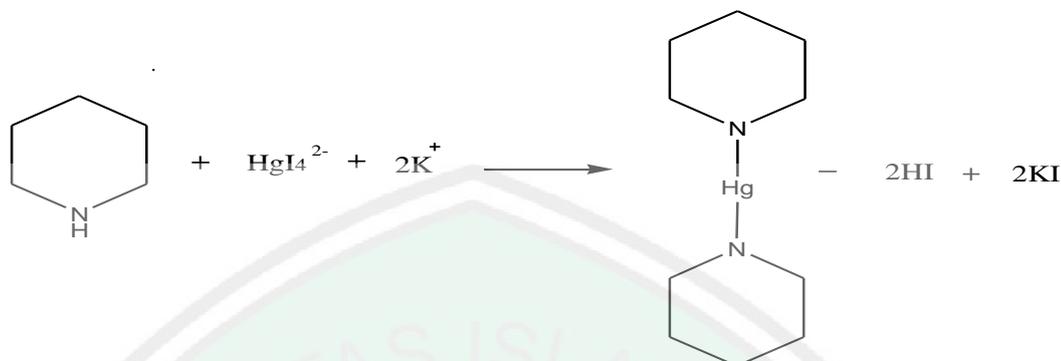
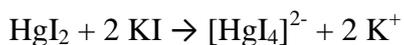
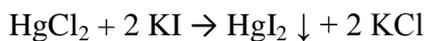
Reagen Dragendorff terbuat dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan bismut (III) iodida yang kemudian terlarut dalam iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismut (Marliana, dkk., 2005). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas (PEB) sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan koordinat dengan logam. Pada reaksi antara alkaloid dengan reagen Dragendorff ini terjadi

penggantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai PEB pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K^+ dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Haryati dan Erwin, 2015). Pada penelitian ini ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* yang positif mengandung golongan senyawa alkaloid adalah ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* Persamaan reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.12:



Gambar 4.12 Reaksi Uji Dragendorff (Sumaryanto, 2009)

Hasil positif pada uji Mayer ditunjukkan dengan terbentuknya endapan kekuning-kuningan yang merupakan endapan dari kompleks kalium-alkaloid. Larutan Meyer terbuat dari larutan merkuri(II) klorida ditambah kalium iodida kemudian bereaksi membentuk endapan merah merkuri(II)iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat(II). Pada uji alkaloid dengan Mayer diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam Hg dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks merkuri-alkaloid yang mengendap (Marliana, dkk., 2005). Perkiraan reaksi yang terjadi ditunjukkan pada Gambar 4.13:

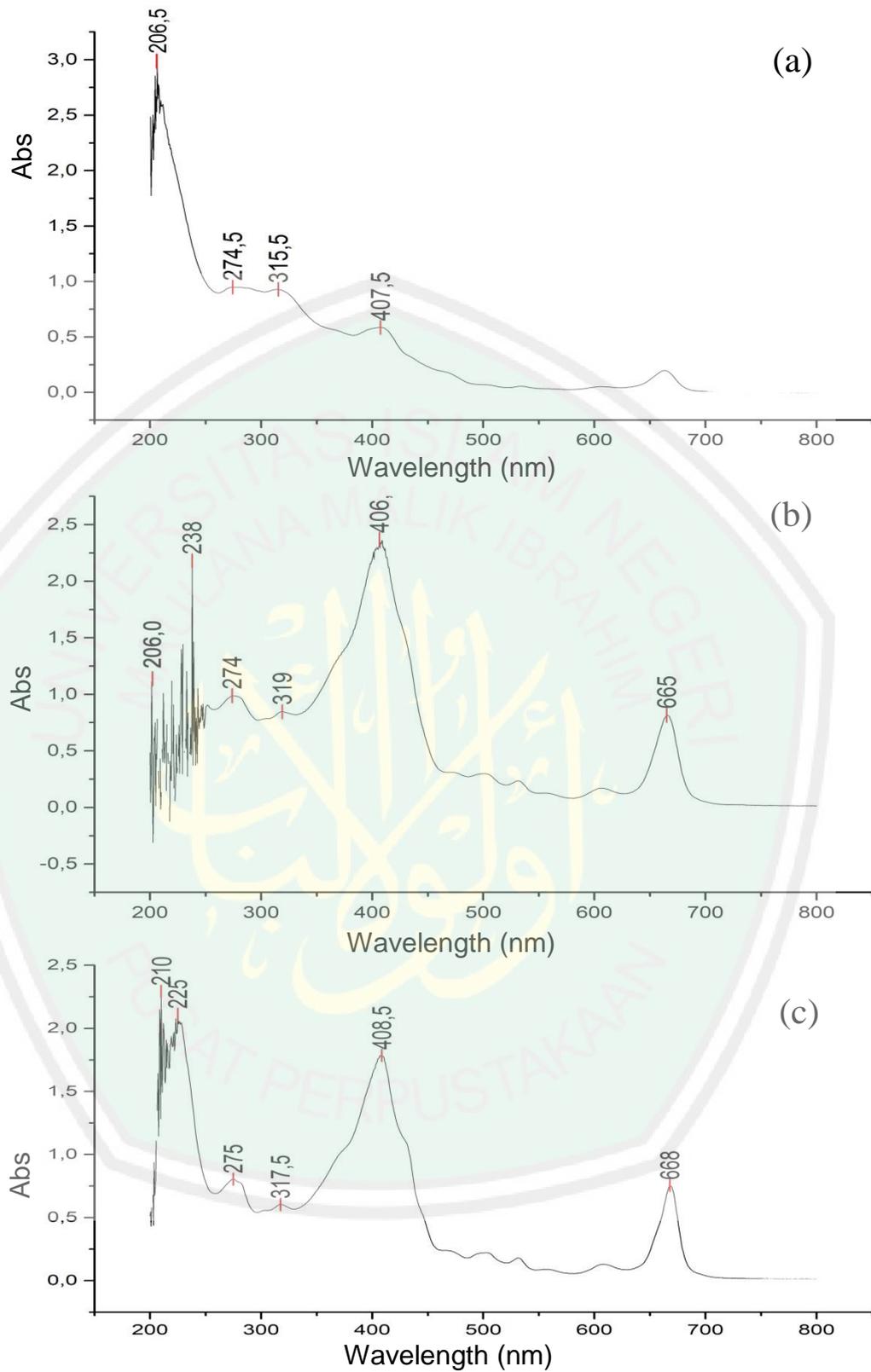


Gambar 4.13 Reaksi Uji Meyer (Sumaryanto, 2009)

4.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel hasil ekstraksi dan partisi diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200 – 800 nm. Identifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk memperkuat dugaan dari uji fitokimia. Berikut adalah hasil identifikasi pada ekstrak kasar metanol, fraksi etil asetat dan fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata*.

Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis didapatkan serapan panjang gelombang pada ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* seperti Gambar 4.14:



Gambar 4.14 Hasil Spektra UV-Vis (a) Ekstrak Metanol, (b) Fraksi Etil Asetat, (c) Fraksi Petroleum Eter

Berdasarkan hasil UV-Vis ekstrak metanol mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 206,5 nm, 274,5 nm, 315,5 nm, dan 407,5 nm. Fraksi etil asetat mempunyai serapan maksimum 206,0 nm, 238 nm, 274 nm, 319 nm, 406 nm dan 665 nm. Sedangkan fraksi petroleum eter mempunyai serapan 210 nm, 225 nm, 275, 317,5 nm, 408,5 nm dan 666 nm. Serapan pada panjang gelombang 206,5 nm, 206,0 nm, 210 nm, 225 nm, dan 238 nm menunjukkan bahwa terdapat transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Menurut Hartini dan Suyatno (2016) terdapat ikatan rangkap C=C yang tidak terkonjugasi akibat transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Serapan panjang gelombang 274 nm, 274,5 nm, 275 nm, 315,5 nm, 317,5 nm, 319 nm, 406 nm, 407,5 nm, 408,5 nm menunjukkan adanya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Sedangkan serapan pada panjang gelombang 665 nm dan 666 nm merupakan transisi $\sigma \rightarrow \pi^*$, puncak tersebut merupakan pigmen klorofil. Adanya puncak klorofil ini disebabkan oleh adanya dua resonansi ikatan rangkap terkonjugasi yang membentang di dalam cincin *porphyrin* struktur klorofil. Resonansi yang lebih panjang akan menghasilkan puncak serapan pada nilai panjang gelombang yang lebih tinggi dan sebaliknya (Lichtenthaler dan Buschmann, 2001; Khuzafah, 2014).

Berdasarkan hasil identifikasi tersebut diketahui bahwa masih banyak senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak maupun fraksi *Hydrilla verticillata*. Uji fitokimia menyatakan bahwa terdapat keberadaan golongan senyawa steroid, triterpenoid, alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid pada ekstrak metanol. Sedangkan pada fraksi etil asetat terdapat adanya golongan senyawa steroid, triterpenoid, dan flavonoid. Serta fraksi petroleum eter terdapat keberadaan golongan senyawa steroid dan triterpenoid. Namun tidak menutup

kemungkinan masih terdapat senyawa bioaktif lainnya yang terkandung dalam *Hydrilla verticillata*.

Hasil identifikasi ini dikuatkan oleh hasil penelitian Mawaddah (2019) yang menyatakan bahwa senyawa steroid mempunyai transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Hal ini disebabkan oleh adanya ikatan rangkap C=C yang tidak terkonjugasi. Panjang gelombang maksimum yang dihasilkan sebesar 206,9 nm. Suharto dkk (2012) menyatakan bahwa golongan senyawa saponin mempunyai transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ yang disebabkan oleh adanya ikatan rangkap C=C yang tidak terkonjugasi, pada penelitiannya didapatkan serapan maksimal senyawa saponin sebesar 209 nm. Sedangkan penelitian Rachman (2015) didapatkan serapan maksimum senyawa saponin sebesar 211 nm, dan penelitian Rikomah (2017) mendapatkan panjang gelombang maksimum senyawa saponin sebesar 220 nm.

Menurut Astuti dkk (2014) transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ merupakan serapan spektra UV khas untuk senyawa triterpenoid yang memiliki kromofor berupa ikatan rangkap yang tak terkonjugasi. Namun (Sari dkk., 2015; Anam 2015) menyebutkan bahwa terdapat senyawa triterpenoid yang juga memiliki transisi $n \rightarrow \pi^*$ yang menandakan adanya gugus C=O. Menurut Napu dkk (2012) triterpenoid dari biji tumbuhan Jarak Kepyar memiliki panjang gelombang 218,5 nm. Sedangkan Anam (2015) mendapatkan serapan maksimum senyawa triterpenoid dari Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) sebesar 253,5 nm dan 238 nm. Sedangkan Ardji (2018) mendapatkan panjang gelombang maksimum hasil isolasi triterpenoid dari batang tanaman Andong sebesar 399,5 nm.

Senyawa alkaloid menurut Murtadlo dkk (2013) diduga mempunyai transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Senyawa alkaloid mengandung kerangka dasar

isokuinolin yang memiliki panjang gelombang pada daerah 230 nm, 266 nm, dan 351 nm (Cordrell, 1981). Murtadlo dkk (2013) melakukan penelitian isolasi senyawa alkaloid pada daun Tempuyung dan didapatkan panjang gelombang maksimum senyawa alkaloid sebesar 225 nm, 253 nm, 352 nm. Begitu juga Fadhly dkk (2015) menghasilkan serapan maksimum senyawa alkaloid pada daun *Rivina humilis L* sebesar 210, 219, dan 252 nm. Sedangkan penelitian Yanti (2014) mendapatkan serapan maksimum senyawa alkaloid sebesar 282 nm.

Senyawa tanin diduga mempunyai transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ yang mengindikasikan adanya ikatan C=C terkonjugasi dan transisi $n \rightarrow \pi^*$ berupa kromofor C=O (Sastrohamidjojo, 2001). Penelitian Lestari dan Sidik (2013) menghasilkan panjang gelombang maksimum senyawa tanin pada kulit batang Kelapa Gading sebesar 333 nm. Sedangkan Sari dkk (2015) menghasilkan serapan maksimum senyawa tanin pada ekstrak daun Trembesi sebesar 346,5 nm.

Sedangkan serapan UV-Vis untuk senyawa flavonoid mempunyai 2 pita serapan. Serapan pita II menunjukkan adanya serapan benzil yang berada pada rentang 230 – 270 nm (Andersen, 2006). Menurut Harbone (1987) pita II menunjukkan gugus utama berupa flavon atau flavonol-3-OH tersubsitusi, hal ini disebabkan oleh adanya kromofor C=O dan C=C dari gugus aromatik yang terkonjugasi, sehingga kromofor tersebut mengakibatkan terjadinya transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Sedangkan pita I disebabkan adanya transisi elektron-elektron yang tidak berikatan ke orbital anti ikatan ($n \rightarrow \pi^*$) oleh suatu gugus C=O (Sastrohamidjojo, 2001). Menurut Markham (1998) pita I berada di panjang gelombang 300 - 560 nm. Penelitian Theodora dkk (2019) terkait isolasi flavonoid pada daun Gedi menghasilkan serapan UV-Vis pita I pada panjang gelombang

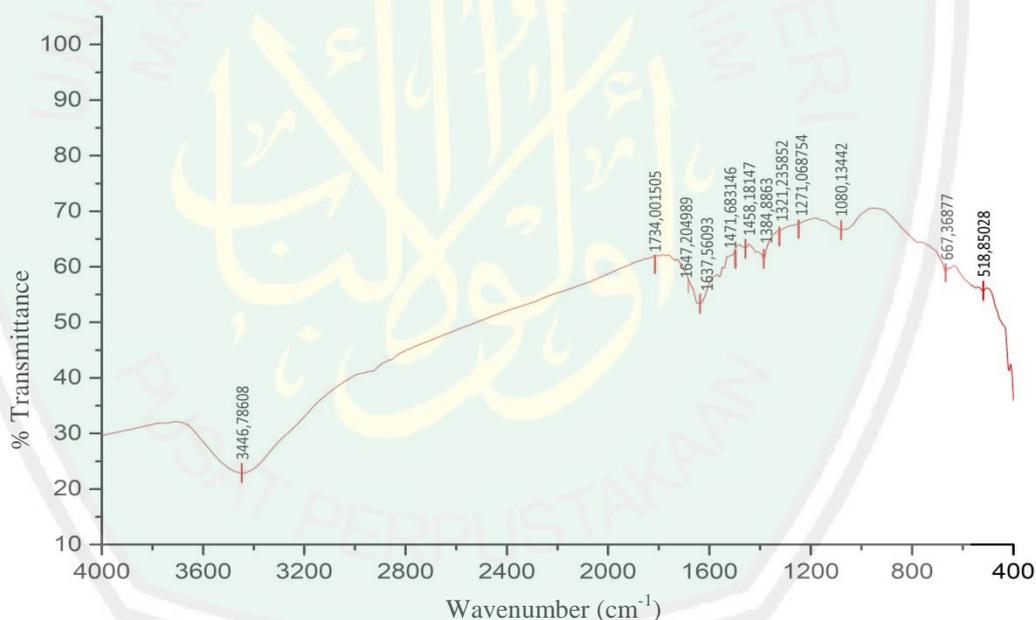
409,4 nm dan pita II pada panjang gelombang 238,4 nm, senyawa flavonoid yang dihasilkan merupakan flavonoid jenis Auron (4-alkoksi-auron).

4.9 Identifikasi Gugus Fungsi Menggunakan FTIR

Ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata* selanjutnya diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR.

4.9.1 Identifikasi Gugus Fungsi pada Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

Ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* yang diduga terdapat adanya golongan senyawa steroid, triterpenoid, tanin, saponin, alkaloid, dan flavonoid diidentifikasi menggunakan instrumen FTIR seperti Gambar 4.17 berikut:



Gambar 4.15 Hasil Spektrum FTIR Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

Gambar 4.15 menunjukkan spektrum FTIR berupa data transmitansi dari bilangan gelombang 4000 – 400 cm⁻¹. Hasil analisis gugus fungsi spektrum dapat dilihat pada Tabel 4.5 berikut:

Tabel 4.5 Interpretasi Spektra FTIR Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Range Pustaka (cm ⁻¹) (Socrates, 1994)	Intensitas (Socrates, 1994)	Jenis Vibrasi
1	3446,786	3550 – 3250	Sedang	O-H (<i>stretch</i>)
2	1734,001	1780 – 1730	Sedang	C=O
3	1647,204	1650 – 1580	Sedang	N-H (<i>bending</i>) amine
4	1637,560	1680 – 1600	Sedang	C=C (<i>stretch</i>)
5	1471,683	1500 – 1400	Lemah	C=C aromatik
6	1458,181	1480 – 1440	Sedang	C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>)
7	1384,886	1395 – 1365	Sedang	C-H pada CH ₃ (<i>bending</i>)
8	1321,235	1342 – 1266	Lemah	C-N (<i>aromatic amine</i>)
9	1271,086	1300 – 1200	Lemah	C-H (<i>bending</i>)
10	1080,134	1140 – 820	Sedang	C-O (<i>stretch sym</i>)
11	667,368	995 – 650	Sedang	=C-H
14	518,850	600 – 420	Lemah	C-H <i>bending (out of plane)</i>

Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* serta memperlihatkan adanya serapan-serapan khas untuk beberapa gugus fungsi. Berdasarkan Gambar 4.15 Dan Tabel 4.5 menunjukkan bahwa ekstrak metanol yang diperoleh memiliki serapan melebar pada 3446,786 cm⁻¹ yang diduga adalah serapan ulur dari gugus O-H. Serapan pada 1734,001 cm⁻¹ merupakan serapan gugus C=O. Pita serapan 1647,204 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi tekuk (*bending*) N-H dari amina. Serapan pada 1637,560 cm⁻¹ menunjukkan adanya uluran (*stretching*) C=C yang diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 667,368 cm⁻¹ menunjukkan adanya tekukan =C-H. Bilangan gelombang 1471,683 cm⁻¹ merupakan serapan gugus fungsi C=C aromatik. Pita serapan 1458,181 cm⁻¹ menunjukkan adanya tekukan C-H pada CH₂ dan pita

1384,886 cm^{-1} merupakan serapan C-H *bending* pada CH_3 . Terdapat serapan C-N aromatik amina pada bilangan gelombang 1321,235 cm^{-1} dan serapan ulur C-O pada bilangan gelombang 1080,134 cm^{-1} . Pita serapan 1271,086 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi tekuk C-H (*bending*) *wagging/twisting* dan serapan 518,850 cm^{-1} menunjukkan vibrasi tekuk C-H (*bending*) *rocking*.

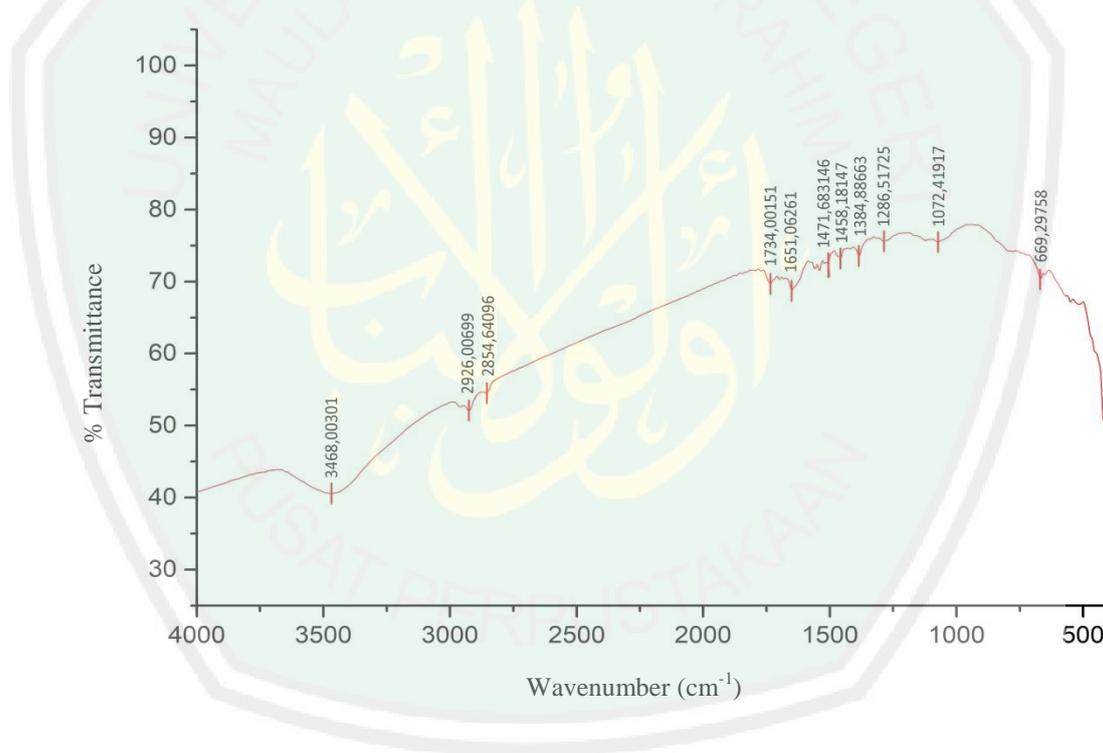
Uji fitokimia ekstrak metanol *Hydrilla* menunjukkan keberadaan golongan senyawa steroid, triterpenoid, tanin, saponin, alkaloid, dan flavonoid. Hal ini diperkuat oleh literatur, pada penelitian Maghfiroh (2019) serapan khas senyawa steroid yaitu dengan adanya serapan gugus -OH (3477 cm^{-1}), gugus C=C non konjugasi (1650 cm^{-1}), dan gugus geminal dimetil (1461 cm^{-1} dan 1383 cm^{-1}). Adanya vibrasi C-H tekukan pada spektra mengindikasikan adanya gugus geminal dimetil, yang merupakan serapan khas dari senyawa steroid dan triterpenoid (Astuti, dkk., 2014). Menurut penelitian Sari dkk (2015) didapatkan serapan khas senyawa triterpenoid yaitu adanya gugus O-H pada bilangan gelombang (3142,04 cm^{-1}), geminal dimetil pada bilangan gelombang (1377,17 cm^{-1} dan 1456,26 cm^{-1}), gugus C=O (1734,01 cm^{-1}) dan gugus C=C non konjugasi (1568,12 cm^{-1}). Penelitian Rachman dkk (2015) menyatakan serapan khas senyawa saponin yaitu dengan adanya gugus C=C (1636,65 cm^{-1}), C-O *stretch* (1090,87 cm^{-1}), C=O (1737,44 cm^{-1}), dan OH *stretch* (3443,40 cm^{-1}).

Hasil serapan senyawa alkaloid menurut hasil penelitian Fadhly (2015) yaitu didapatkan gugus C-N amina (1295,75 cm^{-1}), vibrasi ulur C-O (1087,85 cm^{-1}), gugus C=O (1695,32 cm^{-1}), dan C=C aromatik (1435,64). Sedangkan menurut Prasetya dkk (2018) terdapat N-H *bending* serapan pada bilangan gelombang 1641,42 cm^{-1} di spektra FTIR alkaloid. Sari dkk (2015) melakukan isolasi tanin

dari ekstrak daun Trembesi dan menghasilkan spektra dengan gugus fungsi diantaranya C=O ($1743,65 \text{ cm}^{-1}$), gugus O-H ($3620,39 \text{ cm}^{-1}$), C-H bending ($574,79 \text{ cm}^{-1}$), dan C=C aromatik ($1516,05 \text{ cm}^{-1}$). Sedangkan serapan untuk senyawa flavonoid menurut Gafur dkk (2013) yaitu terdapat vibrasi ikatan OH ($3346,42 \text{ cm}^{-1}$), gugus C-O ($1024,94 \text{ cm}^{-1}$) gugus C=O ($1654,00 \text{ cm}^{-1}$), C-H alifatik ($2947,22$ dan $2832,89$) dan gugus C=C aromatik ($1450,31$).

4.9.2 Identifikasi Gugus Fungsi pada Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata*

Berikut hasil identifikasi FTIR fraksi etil asetat pada Gambar 4.16:



Gambar 4.16 Hasil Spektrum FTIR Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata*

Gambar 4.16 menunjukkan spektrum FTIR berupa data transmitansi dari bilangan gelombang $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Hasil analisis gugus fungsi spektrum dapat dilihat pada Tabel 4.6 berikut:

Tabel 4.6 Interpretasi Spektra FTIR Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata*

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Range Pustaka (cm ⁻¹) (Socrates, 1994)	Intensitas (Socrates, 1994)	Jenis Vibrasi
1	3468,003	3550 – 3250	Sedang	O-H (<i>stretch</i>)
2	2926,006	3000 – 2800	Sedang	-CH ₃ <i>stretch asym</i>
3	2854,640	2870 – 2840	Lemah	-CH ₂ <i>stretch sym</i>
4	1734,001	1780 – 1730	Sedang	C=O
5	1651,062	1680 – 1600	Sedang	C=C (<i>stretch</i>)
6	1471,683	1500 – 1400	Lemah	C=C aromatik
7	1458,181	1480 – 1440	Sedang	C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>)
8	1384,886	1395 – 1365	Sedang	C-H pada CH ₃ (<i>bending</i>)
9	1286,517	1300 – 1200	Lemah	C-H <i>bending</i>
10	1072,419	1140 – 820	Sedang	C-O (<i>stretch sym</i>)
11	669,297	995 – 650	Sedang	=C-H

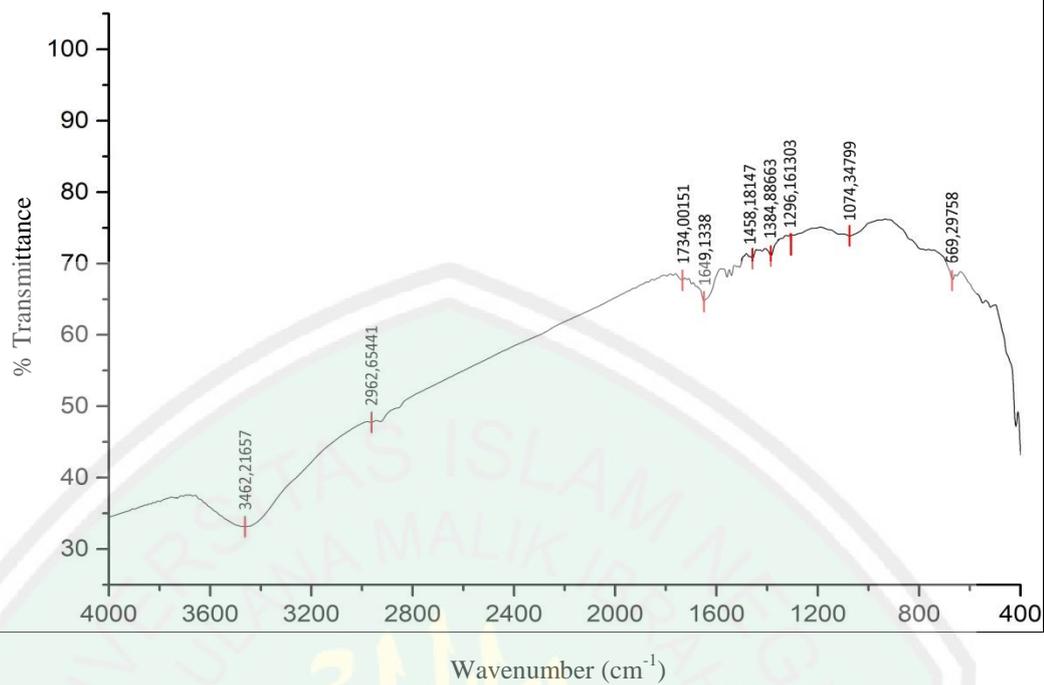
Berdasarkan Gambar 4.16 dan Tabel 4.6 didapatkan hasil interpretasi gugus fungsi yang terdapat dalam fraksi etil asetat *Hydrilla verticillata*. Hasil interpretasi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat yang diperoleh memiliki serapan melebar pada 3468,003 cm⁻¹ yang diduga adalah serapan ulur dari gugus O-H. Serapan pada 2926,006 cm⁻¹ merupakan serapan ulur (*Stretching*) -CH₃ atau C-H alifatik dari sp³ dugaan ini diperkuat dengan adanya serapan pada daerah 1384,886 cm⁻¹ yang merupakan serapan C-H *bending* pada CH₃. Serapan 2854,640 cm⁻¹ diduga adanya gugus CH₂ *stretching* yang diperkuat dengan adanya serapan pada 1458,181 cm⁻¹ yang menunjukkan adanya tekukan C-H pada CH₂. Serapan pada 1734,001 cm⁻¹ merupakan serapan gugus C=O. Serapan pada 1651,062 cm⁻¹ menunjukkan adanya uluran (*stretching*) C=C yang diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 669,297 cm⁻¹ menunjukkan adanya tekukan =C-H. Bilangan gelombang 1471,683 cm⁻¹ merupakan serapan gugus fungsi C=C aromatik. Serapan ulur C-O terdapat pada bilangan gelombang

1072,419 cm^{-1} . Pita serapan 1286,517 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi tekuk C-H (*bending*) *wagging/twisting*.

Uji fitokimia fraksi etil asetat *Hydrilla* menunjukkan keberadaan golongan senyawa steroid, triterpenoid, dan flavonoid. Hal ini diperkuat oleh literatur, menurut hasil penelitian Maghfiroh (2019) serapan khas senyawa steroid yaitu dengan adanya serapan gugus -OH (3477 cm^{-1}), gugus C=C non konjugasi (1650 cm^{-1}), dan gugus geminal dimetil (1461 cm^{-1} dan 1383 cm^{-1}). Sedangkan penelitian Sari dkk (2015) didapatkan serapan senyawa triterpenoid yaitu adanya gugus O-H pada bilangan gelombang (3142,04 cm^{-1}), CH alifatik (2924 cm^{-1} dan 2852,72 cm^{-1}), geminal dimetil pada bilangan gelombang (1377,17 cm^{-1} dan 1456,26 cm^{-1}), gugus C=O (1734,01 cm^{-1}), C-O alkohol pada bilangan gelombang 1224,09 cm^{-1} dan gugus C=C non konjugasi (1568,12 cm^{-1}). Begitu juga hasil penelitian Gafur dkk (2013) yang melakukan isolasi senyawa flavonoid dari daun Jamblang didapatkan serapan gugus fungsi diantaranya terdapat vibrasi ikatan OH (3346,42 cm^{-1}), gugus C-O (1024,94 cm^{-1}) gugus C=O (1654,00 cm^{-1}), C-H alifatik (2947,22 dan 2832,89), dan gugus C=C aromatik (1450,31).

4.9.3 Identifikasi Gugus Fungsi pada Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*

Fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata* yang diduga mengandung senyawa steroid, triterpenoid, dan flavonoid diidentifikasi menggunakan instrumen FTIR seperti Gambar 4.19 berikut:



Gambar 4.17 Hasil Spektrum FTIR Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*

Gambar 4.17 menunjukkan spektrum FTIR berupa data transmitansi dari bilangan gelombang 4000 – 400 cm⁻¹. Hasil analisis gugus fungsi spektrum dapat dilihat pada Tabel 4.7 berikut:

Tabel 4.7 Interpretasi Spektra FTIR Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Range Pustaka (cm ⁻¹) (Socrates, 1994)	Intensitas (Socrates, 1994)	Jenis Vibrasi
1	3462,216	3550 – 3250	Sedang	O-H (<i>stretch</i>)
2	2962,654	3000 – 2800	Sedang	-CH ₃ <i>stretch asym</i>
3	1734,001	1780 – 1730	Sedang	C=O
4	1649,133	1680 – 1600	Sedang	C=C (<i>stretch</i>)
5	1458,181	1480 – 1440	Sedang	C-H pada CH ₂ (<i>bending</i>)
6	1384,886	1395 – 1365	Sedang	C-H pada CH ₃ (<i>bending</i>)
7	1296,161	1300 – 1200	Lemah	C-H <i>bending</i>
8	1074,347	1140 – 820	Sedang	C-O (<i>stretch sym</i>)
9	669,297	995 – 650	Sedang	=C-H (<i>siklik</i>)

Berdasarkan Gambar 4.17 dan Tabel 4.7 didapatkan hasil interpretasi gugus fungsi yang terdapat dalam fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata*. Hasil interpretasi menunjukkan bahwa fraksi petroleum eter yang diperoleh memiliki serapan melebar pada 3462,216 cm⁻¹ yang diduga adalah serapan ulur dari gugus O-H. Serapan pada 2962 cm⁻¹ merupakan serapan ulur (*Stretching*) –CH₃ atau C-H alifatik dari sp³ dugaan ini diperkuat dengan adanya serapan pada daerah 1384,886 cm⁻¹ yang merupakan serapan C-H *bending* pada CH₃. Serapan 1458,181 cm⁻¹ menunjukkan adanya tekukan C-H pada CH₂. Pita serapan pada 1734,001 cm⁻¹ merupakan serapan gugus C=O. Bilangan gelombang pada daerah 1649,133 cm⁻¹ menunjukkan adanya uluran (*stretching*) C=C yang diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 669,297 cm⁻¹ menunjukkan adanya tekukan =C-H. Serapan ulur C-O terdapat pada bilangan gelombang 1074,347 cm⁻¹ dan pita serapan 1296,161 cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi tekuk C-H (*bending*) *wagging/twisting*.

Uji fitokimia fraksi petroleum eter *Hydrilla* menunjukkan keberadaan golongan senyawa steroid dan triterpenoid. Hal ini diperkuat oleh literatur, menurut hasil penelitian Maghfiroh (2019) serapan khas senyawa steroid yaitu dengan adanya serapan gugus $-OH$ (3477 cm^{-1}), gugus $C=C$ non konjugasi (1650 cm^{-1}), dan gugus geminal dimetil (1461 dan 1383 cm^{-1}). Megawati (2020) mendapatkan serapan khas senyawa steroid dengan gugus geminal dimetil pada ($1459,3$ dan 1381 cm^{-1}) Sedangkan serapan senyawa triterpenoid menurut penelitian Sari dkk (2015) yang mengisolasi triterpenoid dari daun Pranajiwa yaitu dengan adanya gugus $O-H$ pada bilangan gelombang ($3142,04\text{ cm}^{-1}$), serapan CH alifatik (2924 cm^{-1} dan $2852,72\text{ cm}^{-1}$), $C-O$ alkohol pada bilangan gelombang $1224,09\text{ cm}^{-1}$, geminal dimetil pada bilangan gelombang ($1377,17\text{ cm}^{-1}$ dan $1456,26\text{ cm}^{-1}$), gugus $C=O$ ($1734,01\text{ cm}^{-1}$) dan gugus $C=C$ non konjugasi ($1568,12\text{ cm}^{-1}$). Menurut Astuti dkk (2014), Serapan geminal dimetil adalah serapan khas dari senyawa steroid dan triterpenoid.

4.10 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan Analisis *Two Way Anova* atau analisis ragam dua arah, dengan taraf kepercayaan 5%. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi dan pelarut ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* atau menguji perbedaan rata-rata perlakuan terhadap variabel terikat. Analisis ini terdiri dari dua atau lebih variabel bebas (pelarut dan konsentrasi) dan satu variabel terikat (zona hambat bakteri). Hasil analisis *Two Way Anova* pengaruh variasi konsentrasi dan pelarut ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* menunjukkan hasil yang signifikan.

Berdasarkan uji F variasi jenis pelarut pada bakteri *E.coli* diperoleh nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($66,269 > 3,12$) dan uji probabilitas dimana nilai sig (0,000) lebih kecil dari nilai alpha (0,05), sedangkan pengaruh variasi konsentrasi menghasilkan nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($70,970 > 2,49$) dan uji probabilitas yaitu nilai sig (0,000) lebih kecil dari nilai alpha (0,05). Hasil uji F variasi jenis pelarut pada bakteri *S. aureus* diperoleh nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($31,793 > 3,12$) dan uji probabilitas dimana nilai sig (0,000) lebih kecil dari nilai alpha (0,05), sedangkan pengaruh variasi konsentrasi menghasilkan nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($85,525 > 2,49$) dan uji probabilitas yaitu nilai sig (0,000) lebih kecil dari nilai alpha (0,05).

Berdasarkan nilai-nilai di atas, maka pengambilan keputusan menggunakan statistik uji untuk perlakuan variasi pelarut dan konsentrasi terhadap bakteri *E. coli* dan *S.aureus* diperoleh $F_{hitung} > F_{tabel}$, dan angka signifikan $< P-Value$ (alpha). Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat minimal satu pengaruh variasi pelarut dan konsentrasi ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* dalam uji antibakteri *E. coli* dan *S.aureus*. Adanya perbedaan rata-rata yang diinformasikan melalui uji anova di atas belum diketahui secara pasti dimanakah letak perbedaan rata-rata tersebut, maka dari itu perlu dilakukan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahuinya. Hasil uji BNT variasi pelarut terhadap zona hambat bakteri *E. coli* dan *S.aureus* ditunjukkan pada Tabel 4.8 berikut:

Tabel 4.8 Hasil Uji BNT Variasi Pelarut terhadap Zona Hambat

Variasi Pelarut	Notasi	
	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
Metanol	A	A
Etil asetat	B	A
Petroleum eter	C	B

Berdasarkan Tabel 4.8 di atas, notasi huruf yang sama merupakan tidak ada beda nyata antara rata-rata zona hambat bakteri terhadap perlakuan variasi pelarut, sedangkan notasi huruf yang berbeda menunjukkan terdapat beda nyata antara rata-rata zona hambat terhadap perlakuan variasi pelarut. Sehingga dapat disimpulkan rata-rata zona hambat *E.coli* terhadap perlakuan variasi pelarut metanol, etil asetat dan petroleum eter berbeda nyata secara signifikan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Sedangkan pada bakteri *S. aureus* diketahui bahwa pelarut metanol dan etil asetat tidak memberikan perbedaan nyata terhadap rata-rata zona hambat bakteri, namun keduanya berbeda nyata dengan pelarut petroleum eter. Adapun hasil uji BNT variasi konsentrasi terhadap zona hambat bakteri *E. coli* dan *S.aureus* ditunjukkan pada Tabel 4.9 berikut:

Tabel 4.9 Hasil Uji BNT Variasi Konsentrasi terhadap Zona Hambat

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Notasi	
	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>
250	A	a
500	B	b
750	C	c
1000	D	d
1250	E	e

Hasil uji BNT variasi konsentrasi tersebut menunjukkan perbedaan notasi pada setiap variasi konsentrasi. Berdasarkan Tabel 4.9 variasi konsentrasi ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata zona hambat bakteri *E. coli* dan *S.aureus*, dimana dari ke-5 variasi konsentrasi tersebut memberikan pengaruh beda nyata, antara yang satu dengan yang lainnya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian masing-masing konsentrasi ekstrak/fraksi *Hydrilla verticillata* menghasilkan zona hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S.aureus*.

4.11 Pemanfaatan *Hydrilla verticillata* dalam Perspektif Islam

Allah Swt. menciptakan segala sesuatu di muka bumi dengan makna dan manfaatnya masing-masing. Demikian pula Allah Swt. menciptakan manusia dengan banyak kelebihan dibandingkan dengan makhluk hidup lainnya. Akal dan pikiran yang diberikan kepada manusia dimaksudkan agar manusia memikirkan dan mengungkap segala sesuatu yang ada di bumi. Allah Swt. berfirman dalam surat Al-Furqan ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ
فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya: “Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu baginya dalam kekuasaan(Nya), dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, lalu Dia menetapkan ukuran-ukuran yang tepat” (QS. Al-Furqan:2)

Hal ini menunjukkan bahwa Allah Swt. telah menciptakan segala sesuatu dengan hikmah yang diinginkan-Nya, dan bukan karena nafsu atau kelalaian, melainkan segala sesuatu berjalan sesuai dengan ketentuan-Nya hingga hari kiamat (Qurthubi, 2009). Allah Swt. penguasa langit dan bumi, baik dalam penciptaan, pengendalian, maupun pengaturannya. Dia tidak beranak dan tidak diperanakan, serta tidak mempunyai sekutu dalam kerajaan-Nya. Dia-lah yang menciptakan seluruh makhluk tanpa seorang pun yang membantu-Nya dalam penciptaan itu. Oleh karena itu, Dia-lah yang berhak disembah. Tidak ada Tuhan selain Dia. Dia-lah yang menciptakan manusia dengan bentuk, ukuran, dan perawakan yang sempurna. Tidak ada cela ataupun kekurangan dalam penciptaan, perbuatan, hukum, dan syariat-Nya (Qarni, 2008). Ayat di atas menerangkan bahwa semua yang diciptakan Allah Swt. berdasarkan ukuran yang sesuai dengan ketentuan-Nya, dan disertai dengan manfaatnya masing-masing. Begitu pula dengan tumbuh-tumbuhan di bumi.

Salah satu tumbuhan yang memiliki manfaat yaitu *Hydrilla verticillata*. Senyawa-senyawa yang terkandung di dalam tumbuhan *Hydrilla verticillata* dalam penelitian ini terbukti memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata* mampu menghambat pertumbuhan

bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Antibakteri adalah suatu senyawa yang dapat membunuh atau menghambat bakteri yang dapat menyebabkan penyakit. Dengan adanya penelitian ini dapat diketahui bahwa salah satu manfaat yang dapat diambil dari tumbuhan khususnya *Hydrilla verticillata* adalah sebagai obat antibakteri. Fenomena ini telah disebutkan sebagaimana hadist yang diriwayatkan oleh Imam Ahmad:

كُنْتُ عِنْدَ النَّبِيِّ صَلَّى اللهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ، وَجَاءَتِ الْأَعْرَابُ، فَقَالَ: يَا رَسُولَ اللهِ، أَنْتَدَاوِي؟ فَقَالَ: نَعَمْ يَا عِبَادَ اللهِ، تَدَاوُوا، فَإِنَّ اللهَ عَزَّ وَجَلَّ لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ شِفَاءً غَيْرَ دَاءٍ وَاحِدٍ. قَالُوا: مَا هُوَ؟ قَالَ: الْهَرَمُ

Artinya: “Aku pernah berada di samping Rasulullah, Lalu datanglah serombongan Arab Badui. Mereka bertanya, 'Wahai Rasulullah, bolehkah kami berobat?' Beliau menjawab, 'Iya, wahai para hamba Allah, berobatlah. Sebab, Allah tidaklah meletakkan sebuah penyakit melainkan meletakkan pula obatnya, kecuali satu penyakit.' Mereka bertanya, 'Penyakit apa itu?' Beliau menjawab, 'Penyakit tua.’” (Diriwayatkan oleh Imam Ahmad).

Hadist tersebut membuktikan bahwa Allah Swt. memberikan penyakit sekaligus dengan obatnya, sehingga manusia berusaha dengan sungguh-sungguh dalam mencari obat niscaya akan diberi kesembuhan oleh Allah Swt. Dari hasil penelitian ini membuktikan bahwa *Hydrilla verticillata* mengandung golongan senyawa steroid dan triterpenoid pada fraksi petroleum eter yang merupakan fraksi dengan aktivitas antibakteri tertinggi. Golongan senyawa ini diduga berpotensi sebagai obat antibakteri terhadap bakteri patogen penyebab penyakit diare yaitu *E.coli* dan bakteri penyebab infeksi pada luka yaitu *S. aureus*.

Hasil dari penelitian ini merupakan salah satu bukti kekuasaan Allah Swt. *Hydrilla verticillata* yang selama ini hanya dianggap sebagai gulma yang

mengganggu penggunaan air, ternyata memiliki manfaat yang luar biasa. Hal ini menunjukkan kebenaran ayat-ayat Al-qur'an yang banyak menjelaskan bahwa Allah Swt. menciptakan segala sesuatu tidak ada yang sia-sia. Melalui penelitian ini diharapkan dapat memberi hasanah mengenai keMahaKuasaan Allah dalam menciptakan sesuatu yang bermanfaat.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Fraksi petroleum eter *Hydrilla verticillata* memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan fraksi etil asetat. Hasil zona hambat tertinggi fraksi petroleum eter terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah 6,1 dan 6,2 mm. Sedangkan zona hambat tertinggi fraksi etil asetat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* adalah 5 dan 5,7 mm.
2. Hasil identifikasi pada fraksi petroleum eter menunjukkan keberadaan golongan senyawa steroid dan triterpenoid. Identifikasi gugus fungsi dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan terdapat ikatan rangkap C=C tidak berkonjugasi dan klorofil. Sedangkan Identifikasi dengan FTIR menunjukkan terdapat gugus fungsi O-H, C=C, C=O, -CH₃, dan -CH₂.

5.2 Saran

1. Diperlukan pemisahan golongan senyawa aktif lebih spesifik dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan bantuan instrumen GC-MS agar dapat mengetahui dengan pasti struktur senyawa aktif dalam *H. verticillata* yang bersifat sebagai antibakteri.
2. Diperlukan peningkatan konsentrasi ekstrak dan fraksi *H. verticillata*, sehingga mampu membunuh bakteri lebih banyak/zona hambat lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Bogor: Pustaka Imam asy-Syafi'i.
- Ad-Dimasyqi, dan Al-Imran. A. F. I. 2001. *Tafsir Ibnu Katsir Juz 10*. Bandung: Sinar Baru Algesindo
- Ajizah, A. 2008. Sensitifitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. *Bioscientiae*, Vol.1, No.1: 31-38
- Alamsjah, M. A., Nurhayati, D. dan Thahjaningsih, W. 2011. Pengaruh Ekstrak Alga Cokelat (*Sargassum sp.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. Vol. 3, No.1.
- Alfiyaturohmah. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Klorofom dan *n*-Heksana Alga Coklat *Sargassum vulgare* Asal Pantai Kapong Pamekasan Terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *Tugas Akhir Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Al-Maraghi dan Musthafa, A. 1993. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi*. Semarang: PT Karya Toha Putra.
- Amalia, S., Fasya, A. G., Hasanah., F., Yuliani, D. 2018. Pemisahan Senyawa Aktif Fraksi Petroleum Eter dan Etil Asetat Hasil Hidrolisis Ekstrak Etanol *Hydrilla verticillata* dari Ranu Grati Pasuruan. *Alchemy Journal of Chemistry*, 6:2
- Anam, K. 2015. Isolasi Senyawa Triterpenoid dari Alga Merah (*Eucheuma cottoni*) menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Analisisnya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Andersen, O. M., dan Markham, K. R. 2006. *Flavonoids: Chemistry, biochemistry, and applications*. Taylor & Francis Group.
- Annie, S.W., Raveen, R., Paulraj, M. G., Samuel, T., and 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.
- Ardji, Widiyantoro, A., dan Destiarti, L. 2018. Karakterisasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Diklorometana Batang Tanaman Andong (*Cordyline fruticosa*) dan Aktivitas Sitotoksiknya terhadap Sel Hela. *JKK*. Vol 7(1).

- Astuti, M. D., Kuntorini, E. M., dan Wisuda, F. E. 2014. Isolasi dan Identifikasi Terpenoid dari Fraksi n-Butanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum swatz*). *Valensi*. Volume 4, No. 1.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur*. Volume 8, Nomor 2. 53-61.
- Ayu, C. K. 2004. Study Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan pada 10 Merk Teh Hijau yang Beredar di Pasaran Kota Malang. *Tugas Akhir Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang
- Bawa, I. G. A. G. 2009. *Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Daging Buah Pare (Momordica charantia L.)*. Bukit Jimbaran: FMIPA Universitas Udayana.
- Brock dan Madigan. 1991. *Biology of Microorganism Fifth Edition*. Prentice Hall International.
- Brooks, G. F., Butel, J. S. and Morse, S. A. 2005. *Medical Microbiology, Terjemahan Oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga*. Jakarta: Salemba Medika.
- Byju, K., Anuradha, V., Rosmine, E., Kumar, N. C., and Nair, S. M. 2012. Chemical Characterization of The Lipophilic Extract of *Hydrilla verticillata*: A Widely Spread Aquatic Weed. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. ISSN 0971-7811. DOI 10.1007/s13562-012-0159-5.
- Byju, K., Anuradha, V., Rosmine, E., Kumar, N. C., and Nair, S. M. 2013. Chemical Characterization of The Lipophilic Extract of *Hydrilla verticillata* : A Widely Spread Aquatic Weed. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*. 304–311. <https://doi.org/10.1007/s13562-012-0159-5>.
- Burke, R. W., Diamondstone, B. I., Velapoldi, R. A. and Menis, O. 1974. Mechanisms of the Libermann-Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol. *CLIN. CHEM.* Vol, 20, No. 7.
- Cordrell, A. 1981. *Introduction to Alkaloid a Biogenetic Approach*. New York: John Willey and Sons.
- Crow, G. E. dan Hellquist, C. B. 2000. *Aquatic and Wetland Plants of Northeastern North America*. Volume Two. US: University of Winsconsin.
- 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.

- Das, B., Pal, D., dan Haldar, A. 2015. Pharmacognostical and Physiochemical Study of the Aquatic Weed *Hydrilla verticillata* (L.F) Royle Known as Nutrient Power House. *International Journal of Research in Pharmacy and Science*, 5(1): 1-5.
- Daud, M. F., Sadiyah, E. R, dan Rismawati, E. 2011. Pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajaya L.*) berdaging buah putih. *Prosiding seminar Nasional Penelitian*. ISSN: 2089-3582.
- Davis W.W. dan Stout T. R. 2009. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 22 (4): 666-670.
- Day R. A. dan Underwood, A. L. 1986. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Deskawi, O., Ningsih, R., Avisena, N., dan Hastuti, E. 2015. Potensi Ekstrak Kasar The Hitam (*Camellia sinensis O.K var. Assamica*) sebagai Pewarna (Dye) pada Pembuatan Sela Surya Tersensitilasi (SSPT). *ALCHEMY: Journal of Chemistry*, 4(1), 50-59.
- Departemen Kesehatan RI. 1994. Persyaratan Obat Tradisional. Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 661/MENKES/SK/VII/1994.
- Dian, dkk. 2015. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Serta Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sirsak Sebagai Antibakteri. *Skripsi*. Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Jendral Sudirman Purwokerto.
- Didik, G. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Dwidjoseputro, D. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Malang: IKIP Malang.
- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi Dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Yang Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Ergina, Nuryanti, S., Puspitasari, I. D. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademi Kimia*. Vol.3 No. 3.
- Fadhly, E., Kusri, D., dan Fachriyah E. 2015. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Daun *Rivina humilis* L. serta Uji Sitotoksik menggunakan

Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 18 (2): 67-72.

- Farouk, A. E., Faizal, A. H. G., dan Ridzwan, B. H. 2007. New Bacterial Species Isolated from Malaysian Sea Cucumbers with Optimized Secreted Antibacterial Activity. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*.
- Fasya, A. G., Millati, N., Rahmawati, L. M., Iyani, R., Hanapi, A., Ningsih, R., Yuliani, D., dan Megawati, D. S. 2020 . Isolation and Bioactivity of Steroids Isolates from Petroleum Ether Fraction of *Chlorella sp.* *AIP Conference Proceedings*. Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Fasya, A. G., Amalia, S., Megawati, D. S., Salima, F., Kusuma, V. A., dan Purwantoro, B. 2020. Isolation, Identification, and bioactivity of steroid isolates for *Hydrilla verticillata* Petroleum Ether Fraction. *IOP Conf. series: Earth and Environmental Science*. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Febriany, S. 2004. Pengaruh Beberapa Ekstrak Tunggal Bangle dan Gabungannya yang Berpotensi Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase Secara In Vitro. *Skripsi Tidak diterbitkan*. Bogor: Fakultas MIPA IPB
- Fessenden, R. J. and Fessenden, J. S. 1982. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 1*. Diterjemahkan oleh Pudjaatmakan, A. H. Jakarta: Penerbit Erlangga. 237-239.
- Fessenden, R.J. and J.S. Fessenden. 1986. *Kimia Organik Dasar Edisi Ketiga. Jilid 1*. Terjemahan oleh A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga
- Gafur, M. A., Isa, I., dan Bialangi, N. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Jamblang (*Syzygium cumini*). *Jurnal Kimia*. Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo.
- Goltenboth, F., Timotius, K. H., Milan, P. P., and Margraf, J. 2012. *Ekologi asia tenggara*. Jakarta: Salemba Teknika.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri Jilid 1*. Diterjemahkan oleh S. Ketaren. Jakarta: UI-Press.
- Hafiz, 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: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Handoko, D.S.P. 2006. Kinetika Hidrolisis Maltosa pada Variasi Suhu dan Jenis Asam sebagai Katalis. *Jurnal SIGMA*. Volume 9, Nomor 1, ISSN 1410-5888. Jember: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinta dan Iwang Soediro. Bandung: ITB
- Hart, H. 1987. *Kimia Organik Suatu Kuliah Singkat*. Penerjemah. Achmadi, S. Jakarta: Erlangga.
- Hartini, R. S., dan Suyatno. 2016. Identifikasi dan Uji Pendahuluan Aktivitas Antikanker Senyawa Non Fenolik dari Ekstrak Diklorometana Batang Tumbuhan Ashitaba (*Angelica Keiskei*). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Surabaya*. ISBN: 978-602-0951-12-6.
- Haryati, N. A dan Erwin C. S. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah (*Syzygium mytifolium Walp*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Kimia Mulawarman*. 13(1): 35-39
- Ikfi, S. 2017. Uji Antioksidan Ekstrak Kasar Metanol, Kloroform, dan n-Heksana *Hydrilla verticillata* (L.F) Royle dari Danau Ranu Pasuruan Menggunakan Metode Difenil Hidrazil (DPPH). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Indrayani, L., Soetjipto, H. dan Sihasale, L. 2006. Skrinning Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis L. Vahl*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina Leach*. *Jurnal Fakultas Sains dan Matematika*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana
- Indarto, 2015. Uji Kualitatif dan Kuantatif Golongan Senyawa Organik dari Kulit Kayu Batang Tumbuhan *Artocarpus dadah Miq*. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Fisika*. Vol 4. No.1
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi*. Bandung: Yrama Widya.
- Jawetz, Edward, Geo, Janet dan Nicholas. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 1*. Terjemahan Edi Nugroho dan Maulana, R. F. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Jawetz, E., Adelberg E.A. dan Melniek J. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Edi Nugroho dan Maulana R.F. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Jaya, I. D. G. K. 2007. Perbedaan Kandungan Minyak Atsiri Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Languas galanga* (L.) Stunz) Secara Maserasi dan Perkolasi. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.

- Kaitu, R. A. M., Sidharta, B. R., dan Atmodjo, K. 2014. Aktivitas Fungi Endofit Jahe Merah (*Zingiber officinale var. rubrum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Biologi*. Pp 1-15.
- Khamidah, U. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khasanah, N. F. 2018. Uji Toksisitas Senyawa Aktif Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan n-Butanol *Hydrilla verticillata* Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dari Perairan Danau Ranu Pasuruan. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khodijah S., Tuasikal B. J., Sugoro, I., dan Yusneti. 2006. Pertumbuhan *Streptococcus Agalactiae* sebagai Bakteri Penyebab Mastitis Subklinis pada Sapi Perah. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Khoiriyah, Siti. 2014. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khoiriyah, S., Hanapi, A. dan Fasya, A. G. 2014. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *Alchemy*. Vol 3 No. 2.
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Khuzaifah, S. (2014). Karakteristik Absorpsi Ekstrak Krokot (*Portulaca oleracea* L.) sebagai sensitiser alami untuk dye-sensitized solar cell (DSSC). *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- 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 Terpenoid dan Steroid*. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara

- Lestari, T., dan Sidik, Y. 2013. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Ekstrak Air Kulit Batang Kelapa Gading (*Cocos nucifera var eburnean*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. Volume 9 Nomor 1.
- Lichtenthaler, H.K dan Buschmann, C. (2001). *Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy*. New York: John Wiley & Sons
- Maghfiroh, N. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana Mikroalga *Chlorella sp.* *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Maharani, T., Sukandar D dan Hermanto S. 2016. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi dari Ekstrak Etil Asetat Daun Namnam (*Cynometra cauliflora L.*) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri. *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*, 2(1); 55-62.
- Marer, P. J., dan Garvey, K. K. 2001. *Aquatic pest control*. USA: University of California.
- Mardiyah, U. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap 1,1-Difenil-2-Pikrihidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinsum* dari perairan Banyuwangi. *Skripsi tidak diterbitkan*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Markham, K. R. 1998. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- Marliana, S., Suryanti, Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule Jacq*) dalam Ekstrak Etanol. *Skripsi*. Surakarta: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Marliana, Dewi, S., Suryanti, V., dan Suyono. 2006. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium Edule Jacq. Swartz*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi* 3. (1): 26-31.
- Marliana, S. D., dan Saleh, C. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat, dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari Siceraria Morliana*). *J. Kimia Mulawarman*. 8(2): 39-63.
- Maulana, A., Supartono dan Mursiti, S. 2017. Bioremediasi Logam Pb pada Limbah Tekstil dengan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus substilis*. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6 (3).

- Megawati, D. S., Fasya, A. G., Pratiwi, R. A., dan Maghfiroh, N. 2020. Pharmacology Potency of Thin Layer Chromatography Steroid Isolates of *Chlorella* sp. Chloroform Fraction. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.
- Miftahurrahmah. 2012. Ekstraksi, Uji Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah *Eucheuma spinosum* dari Pesisir Laut Banyuwangi. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Monalisa, D., Handayani, T., dan Sukmawati., D. 2011. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal BIOMA*, 9(2), 13-20.
- Morin, R. B. Dan Gorman, M. 1995. *Kimia dan Biologi Antibiotik β -lactam (Chemistry and Biologi β -lactam Antibiotics) Edisi III*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Muhibah, S. R. N. 2013. Uji Golongan Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah *Eucheuma Cottonii* dari Petani Lobuk Madura. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mukhlisoh, W. 2010. Pengaruh Ekstrak Tunggal dan Gabungan Daun n-Heksana Rumpun Laut Merah (*Eucheuma cottonii*) Pesisir Pantai Lobuk Madura terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi. Tidak diterbitkan*. Malang. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mulyani, M., Arifin, B., dan Nurdin H. 2013. Uji Antioksidan dan Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Srikaya (*Annona squamosa* L). *Jurnal Kimia Unand*, 2(1), 2303-3401.
- Mulyono. 2006. *Membuat Reagen Kimia di Laboratorium*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Mulyono, H. 2009. *Kamus Kimia*. Jakarta: Bumi Aksara. Halaman 72, 74.
- Murtadlo, Y., Kusri, D., dan Fachriyah E. 2013. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) dan Uji Sitotoksik dengan Metode BLST (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Chem Info*. Vol.1 No.1: 379-385.
- Napu, D. D., dkk. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Kandungan Senyawa Aktif Antifeedant dari Biji Tumbuhan Jarak Kepyar (*Ricinus Communis* Linn)*. Gorontalo: FMIPA Universitas Negeri Gorontalo

- Natheer, S. E., Sekar, C., Amutharaj, P., Rahman, M. S. A., dan Khan, K. K. 2012. Evaluation of Antibacterial Activity of *Morinda citrifolia*, *vitex trifolia*, and *Chromolaena odorata*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 6 (11). Pp. 783-788.
- Nihlati, I. A., Rohman, A., dan Hertiani, T. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci [*Boesenbergia Pandurata* (Roxb.) Schlecht] dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*, 45 (5).
- Ningtyas, R. 2010. Uji Antioksidan, Antibakteri Ekstrak Air Daun Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R. M. Smith) sebagai Pengawet Alami terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Nuria, M. C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. 5: 26-37.
- Nurfadilah. 2013. Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spermonde, Kota Makassar. *Skripsi*. Makassar. Fakultas Ilmu kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.
- Octaviani, M., Fadhli, H., dan Yuneistya, E. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 6(1): 62-68
- Pal, D. K., dan Nimse, S. B. 2006. Little Known Uses of Common Aquatic Plant *Hydrilla verticillata* (Linn . f .) Royle.
- Parhusip, A. J. N. 2006. Kajian Mekanisme Antibakteri Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Disertasi*. Sekolah Pascasarjana. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Peixoto, P. M.G., Kaiser, S., Verza S. G., Resende, P. E D., Treter, J., Pavei,C., dan Ortega, G. G. 2011. LC-Uv Assay Method and UPLC/Q-TOF-MS Characterisation of Saponins from *Ilex Paraguariensis* A. St. Hill (Mate) Unripe Fruit. Research article. <https://www.researchgate.net/publication/51817605>. Diakses pada tanggal 27 September 2019.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid 1. Alih Bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L., Jakarta. UI Press

- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*, Alih bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S. dan Angka, S. L. Jakarta: UI Press.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta. UI Press
- Phukan, P., Phukan, R., and 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, Anna. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press
- Prabha, S. P., and Rajkumar, J. 2015. Phytochemical Screening and Bioactive Potential of *Hydrilla verticillata*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical*. 7(3), 1809–1815.
- Prabha, S. P., Karthik, C., and Chandrika, S. H. 2019. Phytol – A biosurfactant from the aquatic weed *Hydrilla verticillata*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 17 (2019) 736–742.
- Pramita, D., Harlia, dan Sayekti, E. 2013. Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Fraksi Etil Asetat daun Kesium (*Polygonum minus Huds*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 2(3), 142-147.
- Prasetya, A. T., Mursiti, S., dan Jati, N. K. 2018. Isolation and Identification of Active Compounds From Papaya Plants and Activities as Antimicrobial. *Materials Science and Engineering*. 349.
- Pratama, R. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksana dan Etanol *Hydrilla verticillata* terhadap Bakteri *Eschericia coli*, *Bacillus substilis* dan *Vibrio colera*. *Skripsi*. Palembang: Universitas Sriwijaya Sumatera Selatan.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Yogyakarta: Erlangga.
- Pratomo, Mas'uth. 2019. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Cacing Laor (*Lysidice oela*) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Praveena Y. S. N., dan Padmini, P. 2011. Antibacterial Activities of Mycotoxins from Newly Isolated Filamentous Fungi. *International Journal of Plant, Animal, and Enviromental Science*. 1(1) : 8-13.

- Purwanto, B. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Purwoko, T. 2009. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Qarni, A. 2008. *Tafsir Muyassar Jilid 3 Juz 17-24*. Jakarta: Qisthi Press.
- Qurthubi, S. I. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Rachman, A., Wardatun, S., dan Weandarlina, I. Y. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera Cordifonia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Kimia*. Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Pakuan Bogor.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC, pp. 10-12, 179-199.
- Ramesh, S., Rajan, R., and Santhanam, R. 2014. *Freshwater Phytopharmaceutical Compounds*. US: CRC Press.
- Rikomah, S. E., dan Elmitra. 2017. Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Etanol Pelepah Pisang Uli (*Musa paradisiaca*). *SCIENTIA*. Vol 7(1).
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rosyda, A. I. dan Ersam, T. 2009. Peningkatan Kualitas Kayu (*Instia bijuga*): Kompleksasi logam Cu (II), Fe (II) dan Zn (II) oleh Senyawa Tanin. *Prosiding kima FMIPA*.
- Rusdi. 1990. *Tetumbuhan sebagai Sumber Bahan Obat*. Padang: Pusat Penelitian Universitas Andalas.
- Sa'adah, L. (2010). Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* l.). Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Salima, Fiddieni. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*. Skripsi. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Saputra, D. E., Handayani, N., dan Wartono, M. W. 2014. Isolasi dan Identifikasi Campuran Senyawa β -Sitosterol dan Stigmasterol dari Kulit Akar Slatri

(*Calophyllum soulattri* Burm. F). Jurnal Penelitian Kimia. Vol 10 No 1: 87-93

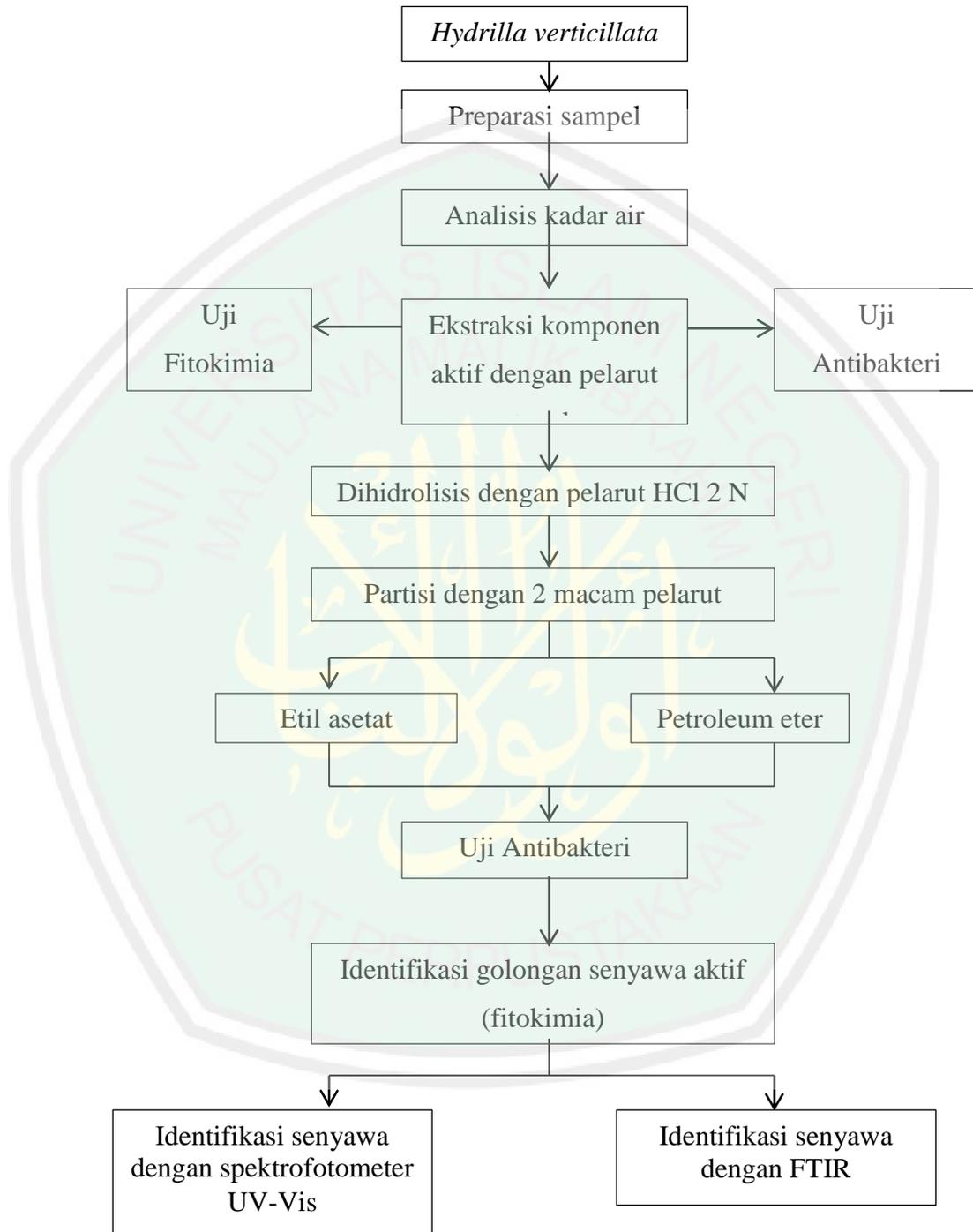
- Sari, K. A. I., Gunawan, I. W. G., dan Putra, K. G. D. 2015. Kapasitas Antioksidan Senyawa Golongan Triterpenoid pada Daun Pranajiwa (*Euchresta horsfieldii* Lesch Benn). *Jurnal Kimia*. 9 (1) 61-66 ISSN 1907-9850.
- Sari, P. P., Rita, W. S., dan Puspawati, N. M. 2011. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*, 27-34.
- Sari, P. P., Rita, W. S., dan Puspawati, N. M. 2015. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) sebagai Antibakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). *Jurnal Kimia*. 9(1): 27-34.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Setyaningsih, I., Linawati., Trianti, R. Dan Ibrahim, B. 1999. Ekstraksi dan Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Chlorella* sp. *Bulletin THP*. Volume VI, Nomor 1.
- Septyaningsih, D. (2010). *Isolasi dan identifikasi komponen utama ekstrak biji buah merah (Pandanus conoideus Lamk)*. Sukarta: Universitas Sebelas Maret.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*. 35(2): 77-83.
- Sigee, D.C., Dean, A., Levado, E dan Tobin, M. J. 2002. Fourier-transform infrared spectroscopy of *Pediastrum duplex*: characterization of a micro-population isolated from a eutrophic lake. *Eur. J. Phycol.* 37: 19-26.
- Socrates. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts Second Edition*. New York: John Wiley and Sons Inc.
- Soebagio, Budiasih, E., Ibnu, M. S., Widarti, H. R. dan Munzil. 2005. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press
- Songer, G. dan Post, K. W. 2005. *Microbiology Bacterial and Fungal Agent of Animal Disease*. Philadelphia: Elsevier Saunders.

- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalpha indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan *Brine Shrimp* (*Artemia Salina Leach*). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Univesitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sudarmadji S, dkk. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suharto, M. A. P., Edy, H. J., dan Dumanauw, J. M. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* L.). *Jurnal Farmasi*. Manado
- Sulistiyani, L. M. 2018. Pemisahan dan Uji Antioksidan Isolat Steroid Hasil KLTP Ekstrak n-Heksana dan Petroleum Eter *Hydrilla verticillata* Danau Ranu Grati. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sumaryanto, A. (2009). Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Kulit Batang Tanaman Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitas Biologisnya Dengan Metode Uji Brine Shrimp. *Skripsi*. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Malang: Universitas Brawijaya
- Sumithran, S. dan Raj, P. J. S. 2013. Keystone Functions of *Hydrilla verticillata*. *Resonance*. General article.
- Suryandari, A. dan Sugianti, Y. 2009. Tumbuhan Air di Danau Limboto, Gorontalo: Manfaat dan Permasalahannya. *BAWAL*. Vol. 2, No. 4. Hal 151-154.
- Tanor, M. N. 2004. *Hydrilla verticillata* sebagai Sumber Hara pada Sistem Budidaya Kacang Tanah. *Eugenia*. 10(1): 92
- Tasic, P., Okanovic, Ristic, D. J. M., Popovic, M., dan Guvic, J. 2009. Chemical Characteristic of Cattle Slaughtering by-Products for Technical Processing. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25 (5): 785-790.
- Theodora, C. T., Gunawan, I. W. G., dan Swantara I. M. D. 2019. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid pada Ekstrak Etil Asetat Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal Kimia*. 13 (2): 131-138.
- Urifah, Dewi., Kusriani., Zakiyah, Umi., Handaru dan Rieke. 2017. Adsorpsi Logam Timbal (Pb) oleh Tanaman *Hydrilla verticillata*. *Jurnal Riset Teknologi Industri*. Volume 11 No.2
- Utami, K. S. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter dan n-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp.* *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Vickery M. L., dan Vickery B. 1981. *Secondary Plant Metabolism*. London: The Mc Millan Pr Ltd.
- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi 5*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Volk dan Wheeler.1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga
- Wahyudi, J., Wibowo, W. A., Rais, Y.A., dan Kusumawardani, A. 2011. Pengaruh Suhu terhadap Kadar Glukosa Terbentuk dan Konstanta Kecepatan Reaksi Hidrolisis Kulit Pisang. *Jurnal Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*. ISSN 1693-4393.
- Walukow, A. F. 2011. Kondisi Parameter Biologi Plankton dan Ikan di Perairan Danau Sentani. *Jurnal Biologi Indonesia* 7 (1): 187-193.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Xia, E., Deng, G., Guo, Y., and Li, H. 2010. Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 622-646
- Yuningsih, R. 2007. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jawer Kotok (*Coleus scutellarioides* [L] Benth). *Skripsi Tidak diterbitkan*. Bogor: ITB

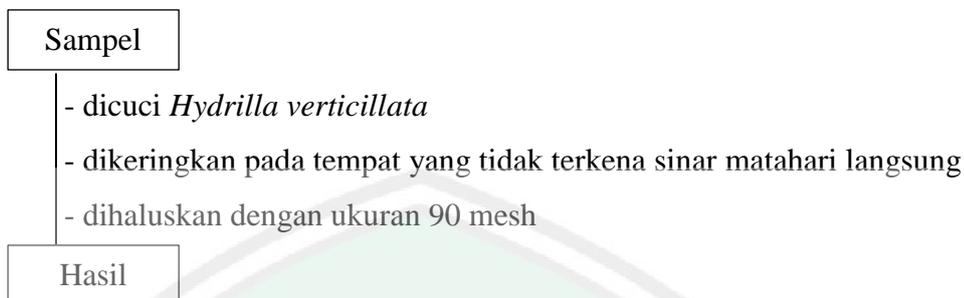
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

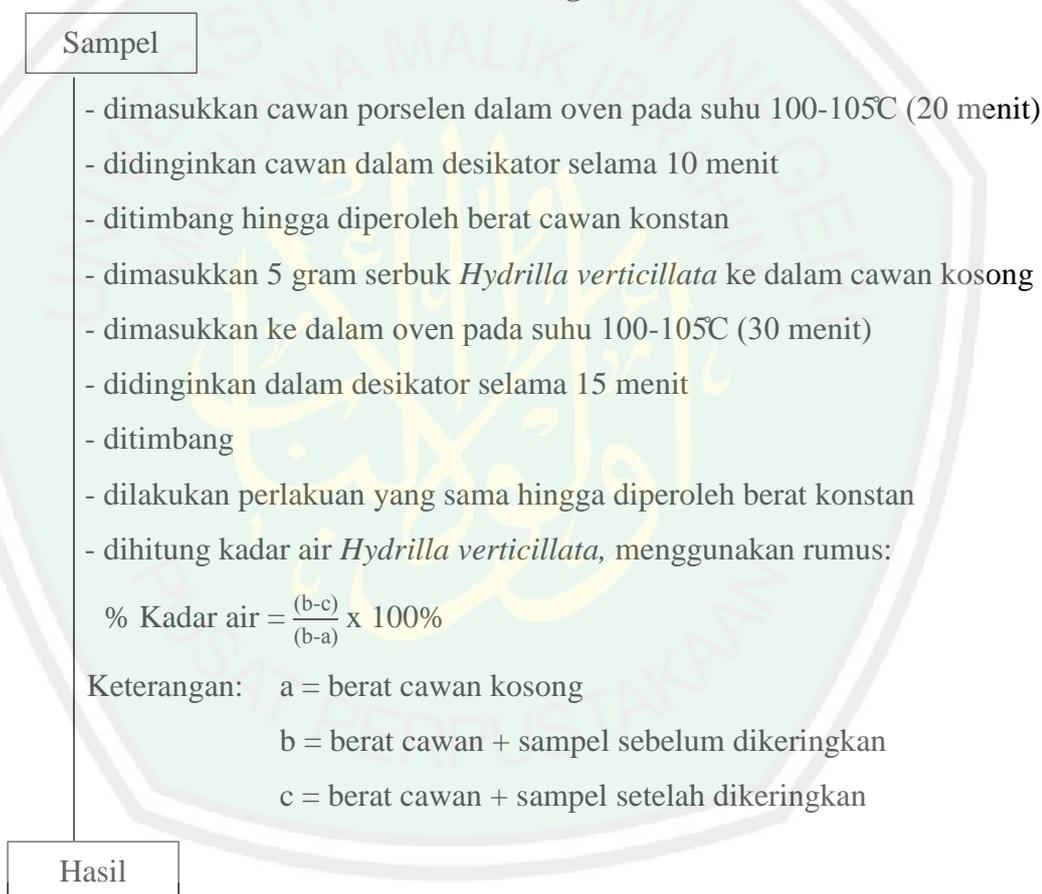


Lampiran 2. Diagram Alir

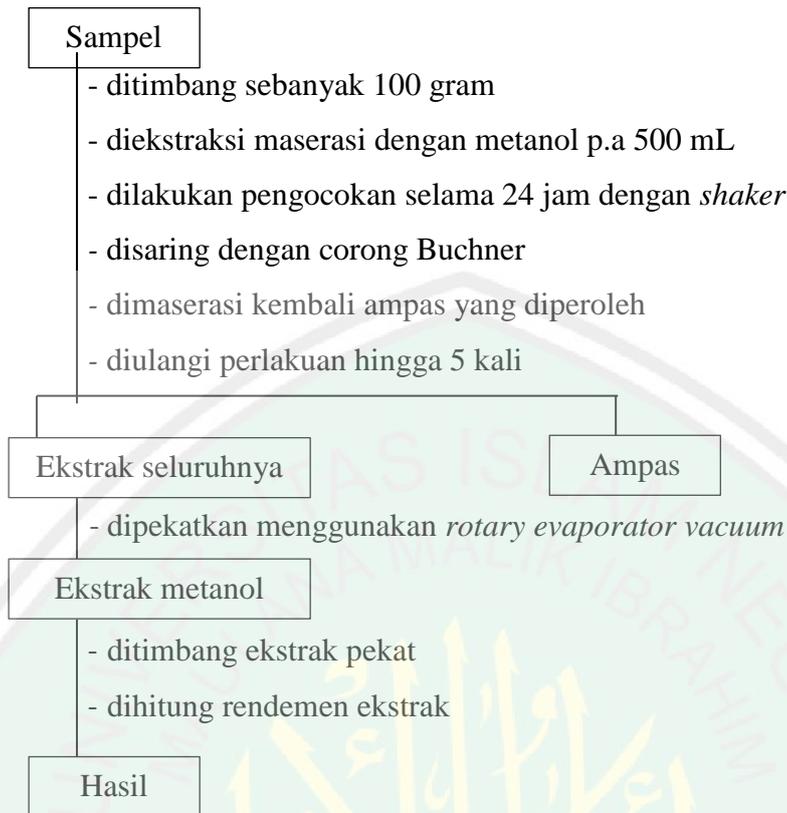
2.1 Preparasi Sampel



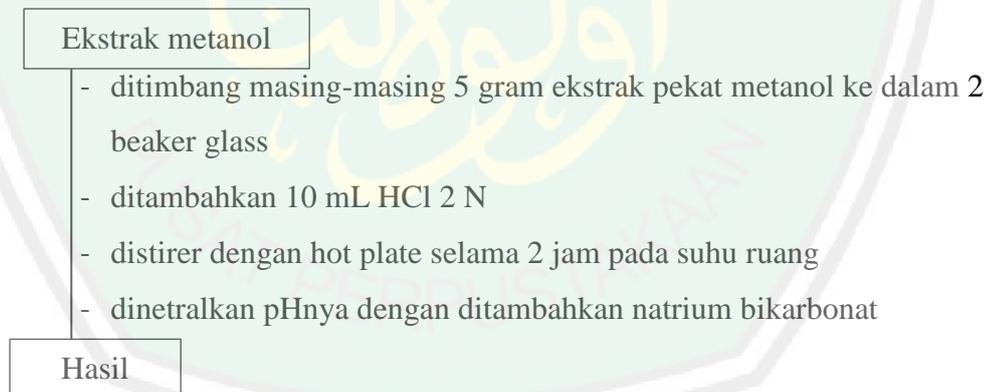
2.2 Penentuan Kadar Air Secara Termogravimetri



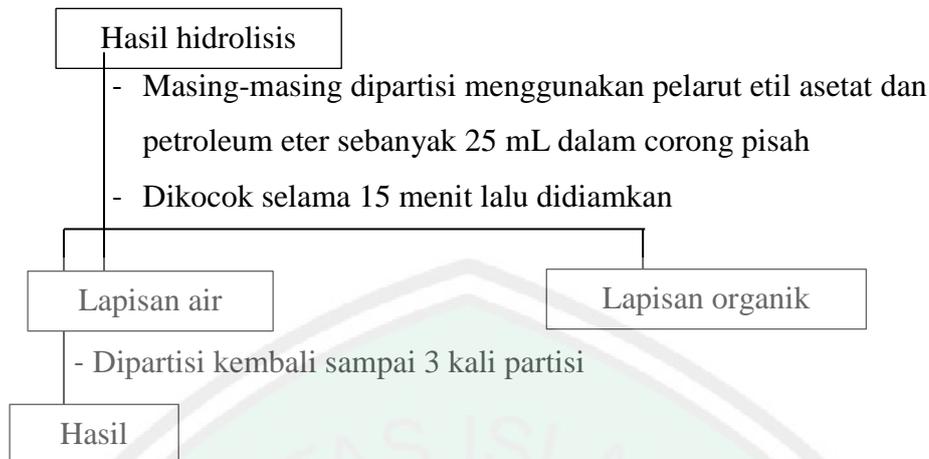
2.3 Ekstraksi Senyawa Aktif



2.4 Hidrolisis Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

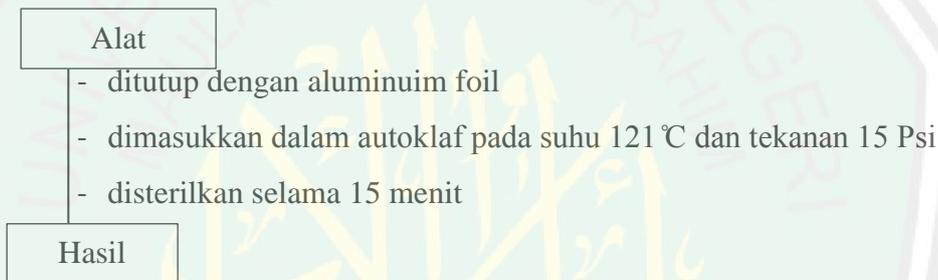


2.5 Partisi Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

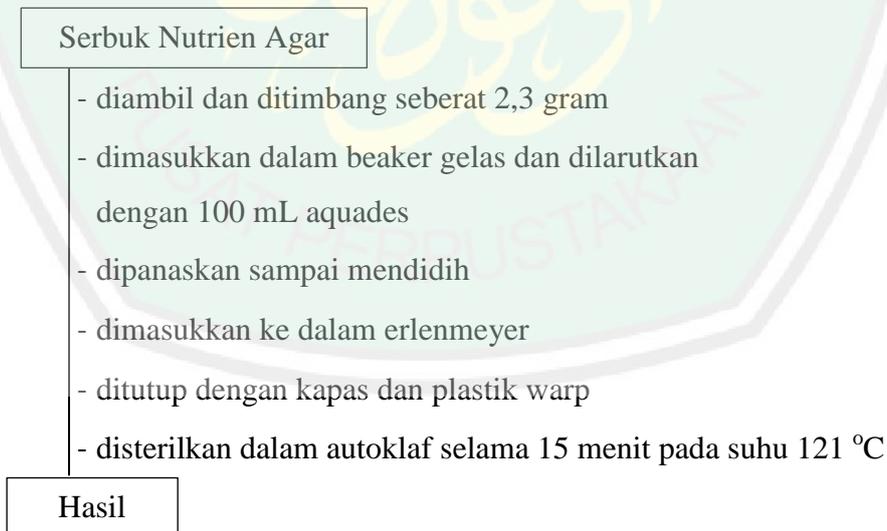


2.6 Uji aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Cakram

2.6.1 Sterilisasi Alat



2.6.2 Pembuatan Media Padat



2.6.3 Pembuatan Media Cair

Serbuk Nutrien Broth

- diambil dan ditimbang seberat 0,9 gram
- dimasukkan dalam beaker gelas dan dilarutkan dengan 100 mL aquades
- dipanaskan sampai mendidih
- dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- ditutup dengan kapas dan plastik warp disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 °C

Hasil

2.6.4 Peremajaan Biakan Murni Bakteri

Isolat Bakteri

- diambil sebanyak 1 ose
- digoreskan pada media nutrient agar miring secara *aseptic*
- ditutup kapas, plastik warp dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam

Hasil

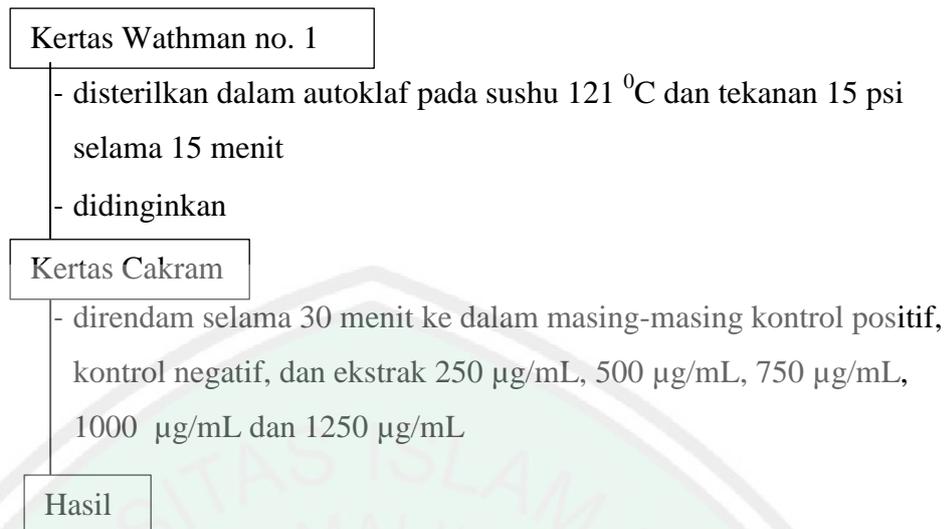
2.6.5 Pembuatan Larutan Biakan Bakteri

Biakan Murni Hasil

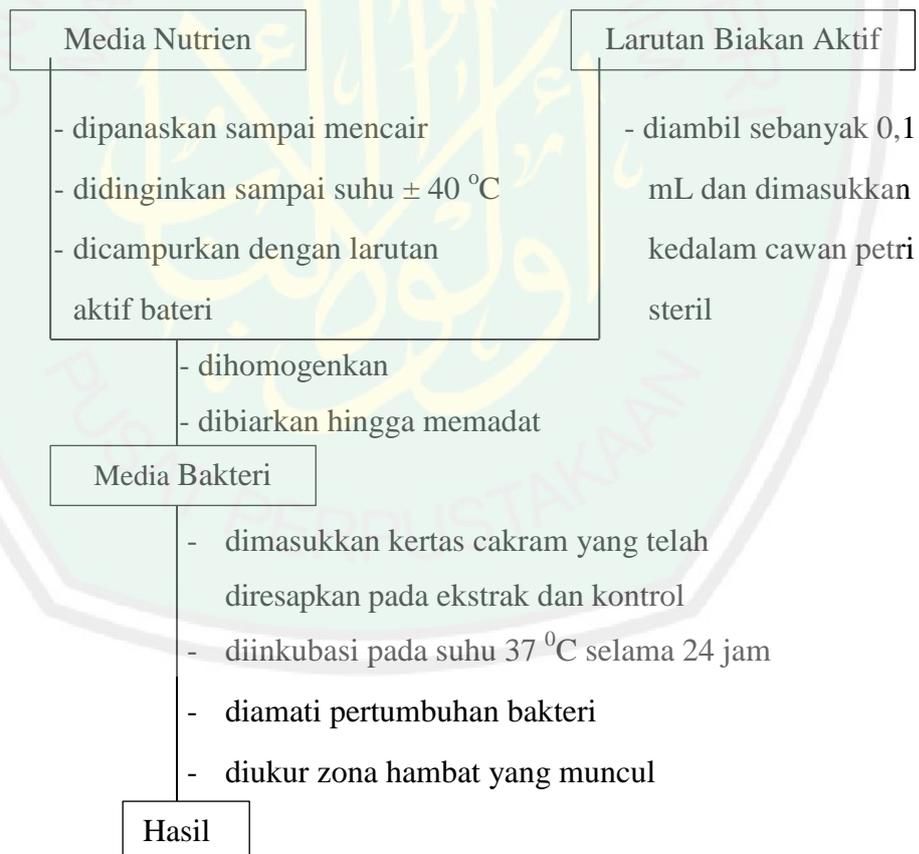
- diambil satu ose
- dibiakkan dalam 10 mL media agar cair (NB) steril
- dihomogenkan
- diinkubasi selama 8 jam pada suhu 37 °C

Biakan aktif

2.6.6 Pembuatan dan Peresapan Kertas Cakram

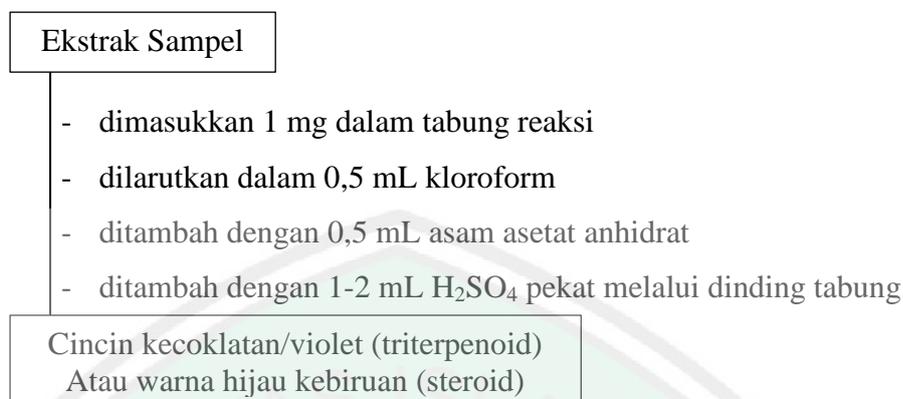


2.6.7 Uji Aktivitas Antibakteri

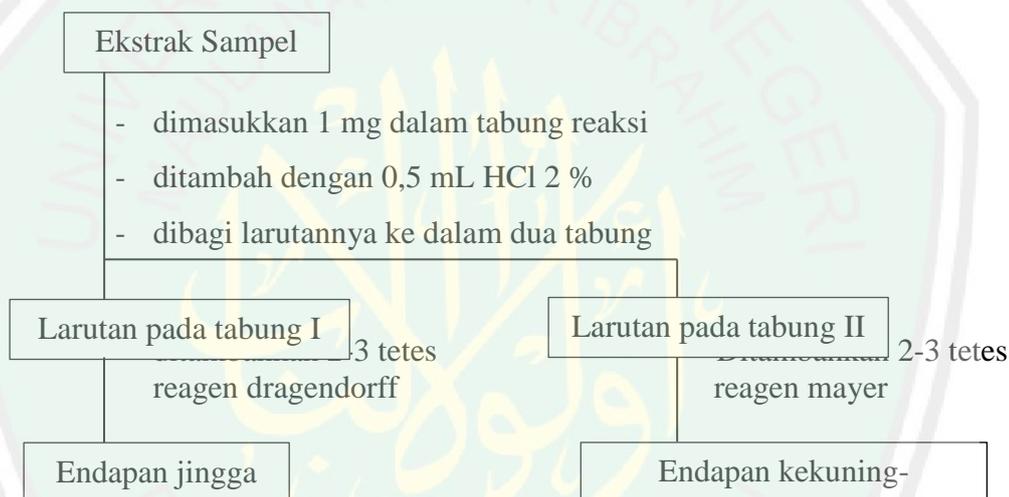


2.7 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dalam *Hydrilla verticillata*

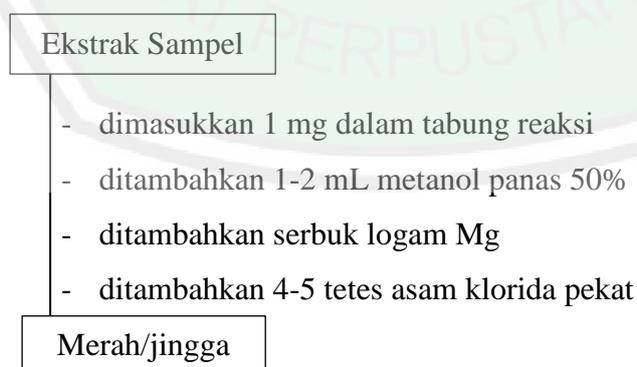
2.7.1 Uji Triterpenoid/Steroid



2.7.2 Uji Alkaloid

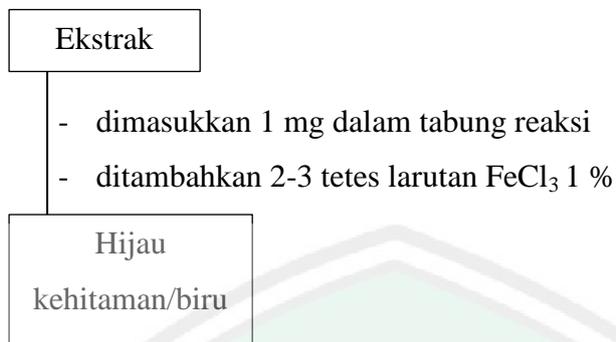


2.7.3 Uji Flavonoid

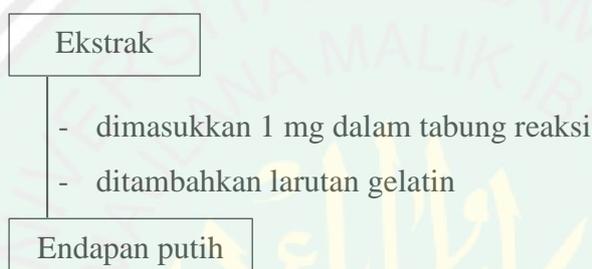


2.7.4 Uji Tanin

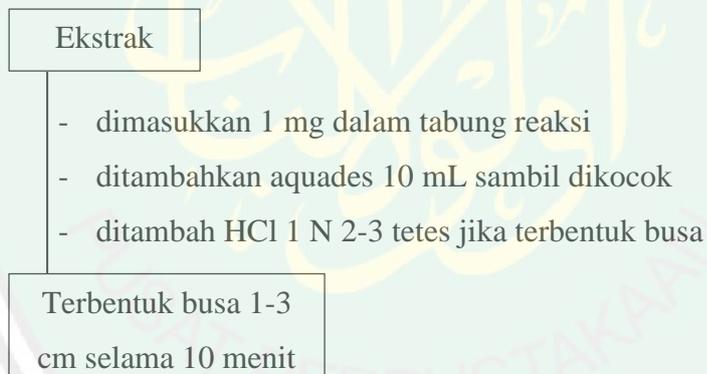
2.7.4.1 Uji dengan FeCl_3



2.7.4.2 Uji dengan Gelatin

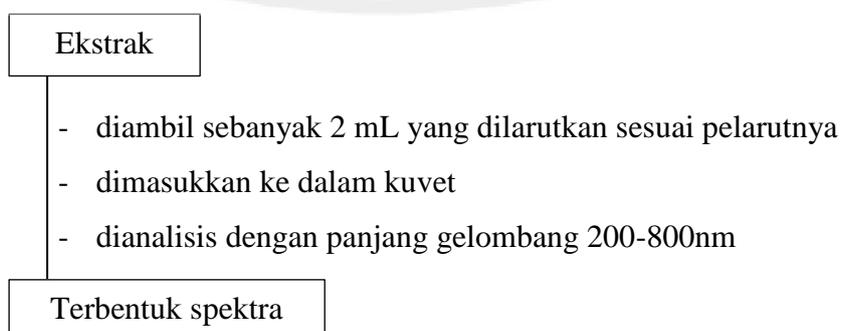


2.7.5 Uji Saponin



2.8 Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR

2.8.1 Spektrofotometer UV-Vis



2.8.2 FTIR

Ekstrak

- diambil ekstrak *Hydrilla*
- ditambahkan KBr dengan perbandingan (2:98)
- digerus hingga halus
- dibuat pellet dengan diameter 7 mm
- ditempatkan pada *sample holder*
- diukur serapannya dengan FTIR pada daerah $4000-400\text{ cm}^{-1}$

Hasil



Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Larutan

3.1 Pembuatan larutan HCl 2 N

$$\rho \text{ HCl } 37\% = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah ion H}^{\text{+}}\text{)}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37\% = \frac{37 \text{ g}}{100 \text{ g larutan}} \times 100\%$$

- Mol HCl dalam konsentrasi 37%

$$= \frac{\text{gram HCl}}{\text{BM HCl}}$$

$$= \frac{37 \text{ gram}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

$$= 1,0159 \text{ mol}$$
- Volume larutan HCl dalam larutan HCl 37%

$$= \frac{m}{\rho}$$

$$= \frac{100 \text{ gram}}{1,19 \text{ g/ml}}$$

$$= 84,033 \text{ mL} = 0,084 \text{ L}$$
- Molaritas HCl 37%

$$= \frac{\text{Mol}}{\text{V(L)}}$$

$$= \frac{1,0159 \text{ mol}}{0,084 \text{ L}} = 12,094 \text{ mol/L}$$
- Normalitas HCl 37%

$$= n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times 12,094 \text{ mol/L}$$

$$= 12,094 \text{ N}$$

Sehingga untuk membuat larutan HCl 2 N sebanyak 100 mL dari larutan HCl 12,094 N menggunakan prinsip pengenceran berikut:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,0894 \text{ N} \times V_1 = 2 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 16,5 \text{ mL}$$

Larutan HCl pekat 37% diambil sebanyak 16,5 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.2 Pembuatan larutan NaHCO_3 5% (b/v)

Sebanyak 5 gram padatan NaHCO_3 dilarutkan dengan sedikit aquades dalam gelas beaker 10 mL. Kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan.

3.3 Pembuatan HCl 2%

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\37\% \times V_1 &= 2\% \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= 0,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet larutan HCl pekat 37% sebanyak 0,5 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL yang berisi 5 mL aquades. Selanjutnya ditambah aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.4 Pembuatan Reagen Dragendorff

- Larutan I 0,6 gram $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O
- Larutan II 6 gram KI dalam 10 mL H_2O

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan 0,6 gram $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ yang dilarutkan ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades dan larutan II dibuat dengan 6 gram KI yang dilarutkan ke dalam 10 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H_2O .

3.5 Pembuatan Reagen Mayer

- Larutan I HgCl_2 1,358 gram dalam aquades 60 mL
- Larutan II KI 5 gram dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya yaitu larutan I dibuat dengan HgCl_2 1,358 gram yang dilarutkan dengan aquades 60 mL dan larutan II dibuat dengan KI 5 gram yang dilarutkan dengan aquades 10 mL. Larutan I dituangkan ke dalam larutan II, diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL.

3.6 Pembuatan metanol 50 %

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\99,8 \% \times V_1 &= 50 \% \times 10 \text{ mL} \\V_1 &= 5 \text{ mL}\end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.7 Pembuatan FeCl₃ 1 %

$$\begin{aligned}\text{BM FeCl}_3 &= 162,2 \text{ g/mol} \\ \text{Massa FeCl}_3 &= 1\% \times \text{BM FeCl}_3 \times V \\ 22,4 \times \text{g} &= 1\% \times 162,2 \text{ g/mol} \times 0,01 \text{ L} \\ \text{g} &= 0,072 \text{ g} = 72 \text{ mg}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan FeCl₃ 1 % diambil sebanyak 72 mg serbuk FeCl₃ dan dilarutkan hingga volume 10 mL.

3.8 Pembuatan Larutan Gelatin

Cara pembuatan larutan gelatin adalah 2,5 g serbuk gelatin dicampur dengan 50 mL larutan garam NaCl jenuh, kemudian dipanaskan sampai gelatin larut seluruhnya. Setelah dingin, ditambahkan larutan NaCl jenuh kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 mL dan dikocok hingga homogen.

3.9 Pembuatan HCl 1 N

$$\begin{aligned}\rho \text{ HCl } 37\% &= 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L} \\ \text{BM HCl} &= 36,42 \text{ g/mol} \\ n &= 1 \text{ (jumlah ion H}^+\text{)} \\ \text{Konsentrasi} &= 37\% = \frac{37 \text{ g}}{100 \text{ g larutan}} \times 100\%\end{aligned}$$

- Mol HCl dalam konsentrasi 37% $= \frac{\text{gram HCl}}{\text{BM HCl}}$
 $= \frac{37 \text{ gram}}{36,42 \text{ g/mol}}$
 $= 1,0159 \text{ mol}$

- Volume larutan HCl dalam larutan HCl 37%

$$= \frac{m}{\rho}$$

$$= \frac{100 \text{ gram}}{1,19 \text{ g/ml}}$$

$$= 84,033 \text{ mL} = 0,084 \text{ L}$$
- Molaritas HCl 37%

$$= \frac{\text{Mol}}{V(\text{L})}$$

$$= \frac{1,0159 \text{ mol}}{0,084 \text{ L}} = 12,094 \text{ mol/L}$$
- Normalitas HCl 37%

$$= n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times 12,094 \text{ mol/L}$$

$$= 12,094 \text{ N}$$

Sehingga untuk membuat larutan HCl 1 N sebanyak 10 mL dari larutan HCl 12,094 N menggunakan prinsip pengenceran berikut:

$$\begin{aligned} N_1 \times V_1 &= N_2 \times V_2 \\ 12,094 \text{ N} \times V_1 &= 1 \text{ N} \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,83 \text{ mL} \end{aligned}$$

Larutan HCl pekat 37% diambil sebanyak 0,83 mL kemudian diencerkan dengan aquades hingga volume 10 mL dan dikocok hingga homogen.

3.10 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

- Konsentrasi 1250 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Massa sampel} = 1250 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 3750 \mu\text{g} = 3,75 \text{ mg} = 3,75 \times 10^{-3} \text{ g}$$

Sebanyak 0,00375 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 3 mL hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 1250 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 3 mL

- Konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Massa sampel} = 1000 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 3.000 \mu\text{g} = 3 \text{ mg} = 3 \times 10^{-3} \text{ g}$$

Sebanyak 0,003 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 3 mL hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ sebanyak 3 mL.

➤ Konsentrasi 750 µg/mL

$$\text{Massa sampel} = 750 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 2.250 \mu\text{g} = 2,25 \text{ mg} = 2,25 \times 10^{-3} \text{ g}$$

Sebanyak 0,00225 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 3 mL hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 750 µg/mL sebanyak 3 mL

➤ Konsentrasi 500 µg/mL

$$\text{Massa sampel} = 500 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 1.500 \mu\text{g} = 1,5 \text{ mg} = 1,5 \times 10^{-3} \text{ g}$$

Sebanyak 0,0015 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 3 mL hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 500 µg/mL sebanyak 3 mL

➤ Konsentrasi 250 µg/mL

$$\text{Massa sampel} = 250 \mu\text{g/mL} \times 3 \text{ mL} = 750 \mu\text{g} = 0,75 \text{ mg} = 7,5 \times 10^{-4} \text{ g}$$

Sebanyak 0,00075 gram ekstrak dilarutkan dengan pelarutnya sampai volume 3 mL hingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 250 µg/mL sebanyak 3 mL

Lampiran 4. Data Pengamatan dan Perhitungan

4.1 Data Penentuan Kadar Air Sampel Kering *Hydrilla verticillata*

4.1.1 Data Berat Cawan Kosong

Ulangan Cawan	Berat Cawan Kosong (g)				Berat Konstan (g)
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
A1	55,2221	55,2219	55,2217	55,2216	55,2217
A2	51,2572	51,2558	51,2558	51,2557	51,2558
A3	56,9821	56,9809	56,9807	56,9810	56,9809

Keterangan: A= Cawan, P= Ulangan

Berat cawan kosong yang telah konstan kemudian ditambah 1 gram serbuk *Hydrilla verticillata* dan ditimbang kembali sampai berat konstan pada data cawan+sampel.

4.1.2 Data Berat Cawan+Sampel

Ulangan Cawan	Berat Cawan+Sampel (g)				Berat Konstan (g)
	Sebelum dioven	P1	P2	P3	
A1	56,2221	56,1448	56,1445	56,1447	56,1447
A2	52,2572	52,1795	52,1799	51,1799	52,1798
A3	57,9821	57,9039	57,9039	57,9036	57,9038

Keterangan: A= Cawan, P= Ulangan

Data berat konstan yang didapatkan adalah data berat cawan+sampel konstan yang akan dihitung nilai kadar airnya.

1. Kadar air sampel pada cawan A1

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven}) - (\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{(56,2217 - 56,1447)g}{(56,2217 - 55,2217)g} \times 100\% \\
 &= 7,70\%
 \end{aligned}$$

2. Kadar air sampel pada cawan A2

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\ &= \frac{(52,2558-52,1798)g}{(52,2558-51,2558)g} \times 100\% \\ &= 7,60\% \end{aligned}$$

3. Kadar air sampel pada cawan A1

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan kosong})} \times 100\% \\ &= \frac{(57,9809-57,9038)g}{(57,9809-56,9809)g} \times 100\% \\ &= 7,71\% \end{aligned}$$

$$\text{Kadar air rata-rata } \textit{Hydrilla verticillata} = \frac{7,70\%+7,60\%+7,71\%}{3} = 7,67\%$$

4.2 Perhitungan Rendemen

4.2.1 Ekstrak Metanol

Ulangan	Berat Beaker Glass 250 mL Kosong (g)	Berat Beaker Glass 250 mL+sampel (g)	Berat Ekstrak Pekat <i>Hydrilla</i> <i>verticillata</i> (g)
1	127,8848	134,7298	6,8450
2	105,5821	111,9717	6,3896
3	101,0362	107,2864	6,2502

$$\begin{aligned} \text{Rendemen 1} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat } \textit{Hydrilla verticillata}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{6,8450 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,84\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen 2} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat } \textit{Hydrilla verticillata}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{6,3896 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 6,38\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen 3} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat } \textit{Hydrilla verticillata}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{6,2502 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 6,25\%
 \end{aligned}$$

$$\text{Rendemen rata-rata ekstrak } \textit{Hydrilla verticillata} = \frac{6,84\% + 6,38\% + 6,25\%}{3} = 6,49\%$$

4.2.2 Fraksi Etil Asetat

$$\begin{aligned}
 \text{Berat gelas kosong} &= 150,2386 \text{ g} \\
 \text{Berat gelas kosong+sampel} &= 152,7433 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= 2,5047 \text{ g}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,5047 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 50,094\%
 \end{aligned}$$

4.2.3 Fraksi Petroleum Eter

$$\begin{aligned}
 \text{Berat gelas kosong} &= 118,5411 \text{ g} \\
 \text{Berat gelas kosong+sampel} &= 120,9686 \text{ g} \\
 \text{Berat ekstrak pekat} &= 2,4275 \text{ g}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,4275 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 48,550\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Data Uji Aktivitas Antibakteri

5.1 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap bakteri *E. coli*

5.1.1 Hasil Zona Hambat Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)						Rata- Rata (mm)
	U1		U2		U3		
	1	2	1	2	1	2	
250	2,5	2,0	1,2	1,25	1,3	1,4	1,6
500	3,3	3,2	1,6	1,7	2,6	1,7	2,4
750	3,4	3,4	2,0	1,75	2,9	2,4	2,6
1000	3,7	3,5	2,4	2,9	3,0	2,9	3,0
1250	3,75	3,7	3,8	3,8	3,4	3,2	3,6

5.1.2 Hasil Zona Hambat Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)						Rata- Rata (mm)
	U1		U2		U3		
	1	2	1	2	1	2	
250	3,9	3,1	2,1	2,7	2,0	2,0	2,6
500	4,1	4,5	2,6	2,9	3,3	3,3	3,5
750	4,4	4,6	3,1	3,5	3,8	3,8	3,9
1000	4,8	4,9	3,6	3,9	4,0	4,0	4,2
1250	5,1	5,0	4,7	4,9	4,9	4,9	5,0

5.1.3 Hasil Zona Hambat Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)						Rata- Rata (mm)
	U1		U2		U3		
	1	2	1	2	1	2	
250	1,3	1,35	2,4	2,2	2,7	2,3	2,0
500	3,5	3	3	2,5	3,1	3,3	3,0
750	4,1	5,15	4	4,3	4,8	4	4,3
1000	5,25	5,75	5,6	5,5	5,9	5,3	5,6
1250	5,3	6,2	7,2	5,8	6,2	5,9	6,1

5.1.4 Hasil Zona Hambat Kontrol (+) Kloramfenikol

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)						Rata- Rata (mm)
	U1		U2		U3		
	1	2	1	2	1	2	
250	9.65	10.30	13,3	14,1	13,2	13,2	12,2

5.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*

5.2.1 Hasil Zona Hambat Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)						Rata- Rata (mm)
	U1		U2		U3		
	1	2	1	2	1	2	
250	1,75	1,35	1,5	1,6	1,8	1,4	1,6
500	1,8	1,75	3,8	4,2	2,1	1,8	2,6
750	2,65	2,35	4	4,8	3,2	2,3	3,2
1000	3,3	3,3	4,1	5	3,4	2,8	3,6
1250	3,7	3,7	4,5	5,1	3,9	3,1	4,0

5.2.2 Hasil Zona Hambat Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)						Rata- Rata (mm)
	U1		U2		U3		
	1	2	1	2	1	2	
250	1,75	1,7	1,5	1,4	1,5	1,5	1,5
500	2,55	2,1	1,6	1,5	1,8	2,1	2,0
750	3,9	3,8	3,2	3,2	2,2	2,6	3,1
1000	4,1	4,1	4	4	3,1	3,2	3,8
1250	5,9	6,3	5,5	5,5	5,6	5,5	5,7

5.2.3 Hasil Zona Hambat Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)						Rata- Rata (mm)
	U1		U2		U3		
	1	2	1	2	1	2	
250	2,9	3	2,1	1,3	2,6	2,5	2,4
500	3,1	3,9	2,7	2	3,2	3,3	3,0
750	4,2	4,5	4	3	4,9	3,9	4,1
1000	5,8	5,3	5,6	5,5	6,1	4,9	5,6
1250	6,3	6,2	6,5	5,7	6,5	5,7	6,2

5.2.4 Hasil Zona Hambat Kontrol (+) Kloramfenikol

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Zona Hambat (mm)						Rata- Rata (mm)
	U1		U2		U3		
	1	2	1	2	1	2	
250	10,40	10,75	14,0	14,5	13,2	13,6	12,7

Lampiran 6. Hasil Analisis dengan *Two Way Anova* (SPSS) dan Uji BNT *Anova*

6.1 Hasil Analisis Anova Bakteri *E. coli*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ZonaHambat

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	139,372 ^a	14	9,955	33,019	,000
Intercept	1144,543	1	1144,543	3796,234	,000
JenisPelarut	39,960	2	19,980	66,269	,000
Konsentrasi	85,588	4	21,397	70,970	,000
JenisPelarut * Konsentrasi	13,824	8	1,728	5,732	,000
Error	22,612	75	,301		
Total	1306,528	90			
Corrected Total	161,984	89			

a. R Squared = ,860 (Adjusted R Squared = ,834)

Homogeneous Subsets

ZonaHambat

	JenisPelarut	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Ekstrak metanol	30	2,6550		
	Etil asetat	30		3,8133	
	Petroleum eter	30			4,2300
	Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,301.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30,000.

b. Alpha = ,05.

Homogeneous Subsets

		ZonaHambat				
Konsentrasi	N	Subset				
		1	2	3	4	5
250 ug/mL	18	2,0944				
500 ug/mL	18		2,9556			
750 ug/mL	18			3,6333		
1000 ug/mL	18				4,2722	
1250 ug/mL	18					4,8750
Tukey HSD ^{a,b} Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,301.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18,000.

b. Alpha = ,05.

6.2 Hasil Analisis Anova Bakteri *S. aureus*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: zonahambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	169,830 ^a	14	12,131	31,253	,000
Intercept	1088,197	1	1088,197	2803,547	,000
Jenispelarut konsentrasi	24,681	2	12,341	31,793	,000
Jenispelarut * konsentrasi	132,787	4	33,197	85,525	,000
Error	12,362	8	1,545	3,981	,001
Total	29,111	75	,388		
Corrected Total	1287,138	90			
	198,941	89			

a. R Squared = ,854 (Adjusted R Squared = ,826)

Homogeneous Subsets

zonahambat

Jenis pelarut		N	Subset	
			1	2
Tukey HSD ^{a,b}	ekstrak metanol	30	3,0017	
	Etil asetat	30	3,2233	
	petroleum eter	30		4,2067
	Sig.		,358	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,388.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30,000.

b. Alpha = ,05.

Homogeneous Subsets

zonahambat

konsentrasi		N	Subset				
			1	2	3	4	5
Tukey HSD ^{a,b}	250 ug/mL	18	1,8417				
	500 ug/mL	18		2,5167			
	750 ug/mL	18			3,4833		
	1000 ug/mL	18				4,3111	
	1250 ug/mL	18					5,2333
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,388.

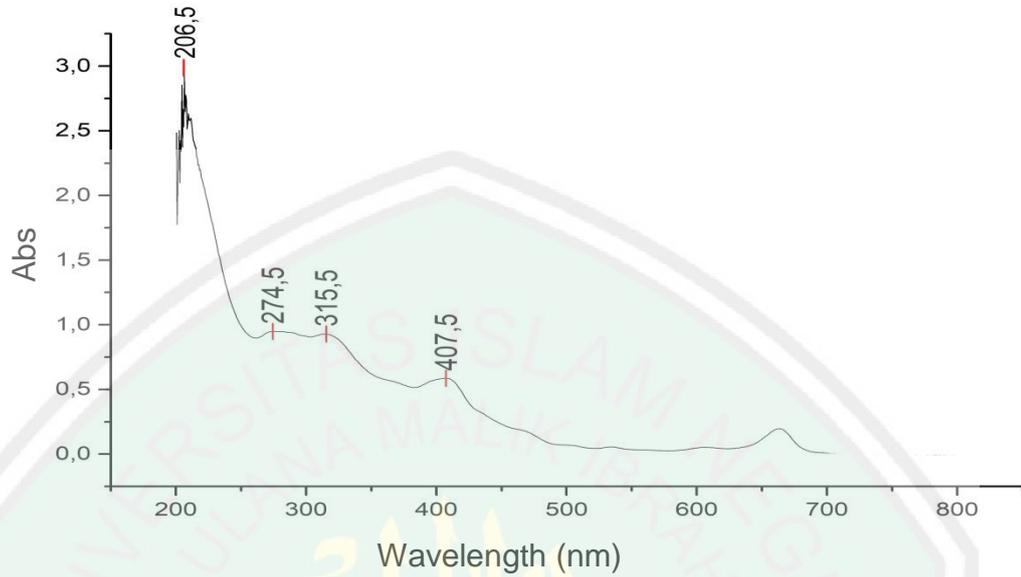
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18,000.

b. Alpha = ,05.

Lampiran 7. Hasil Identifikasi Menggunakan UV-Vis dan FTIR

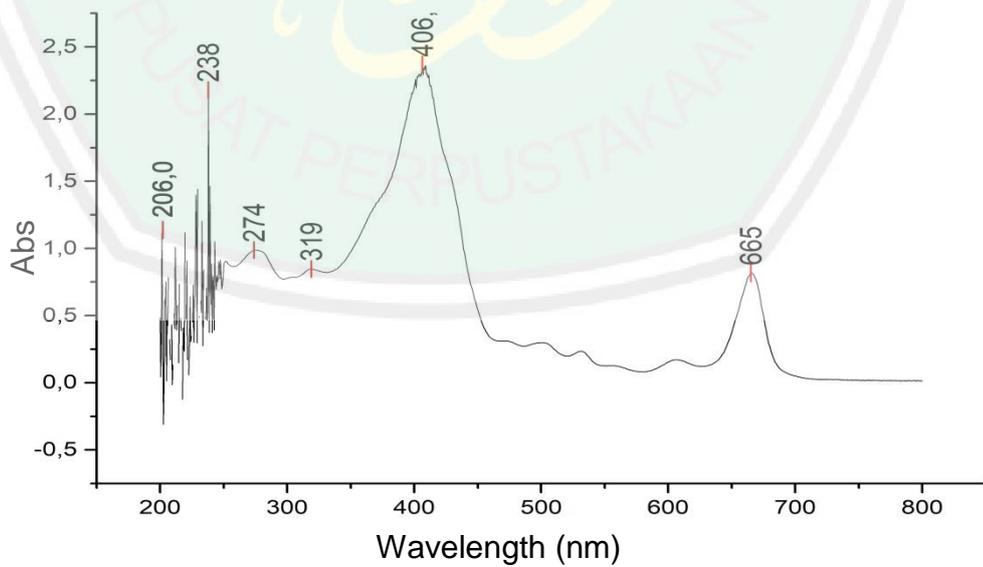
7.1 Hasil Identifikasi Menggunakan UV-Vis

7.1.1 Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*



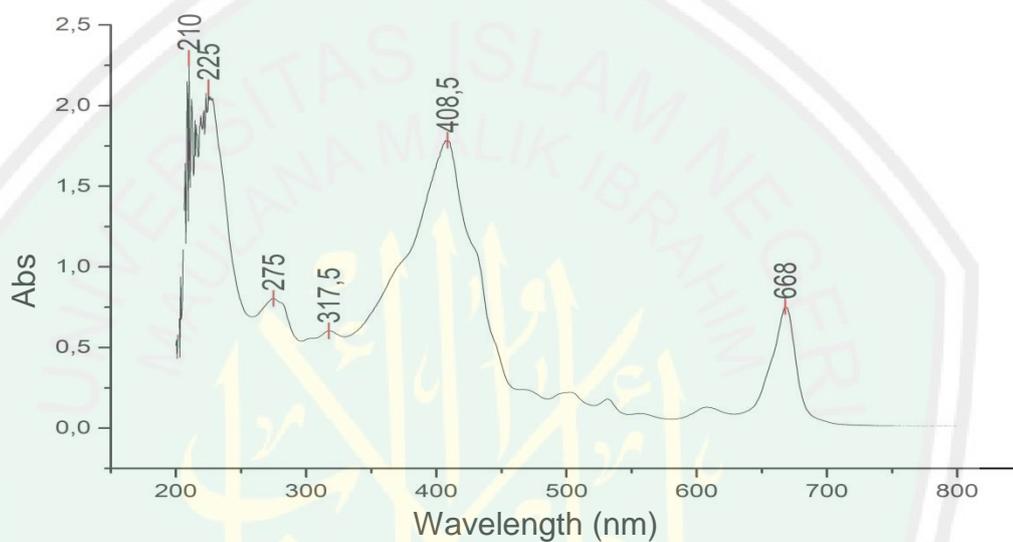
Wavelength (nm)	Abs
206,5	2,924101
274,5	0,949349
315,5	0,928589
407,5	0,586885

7.1.2 Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata*



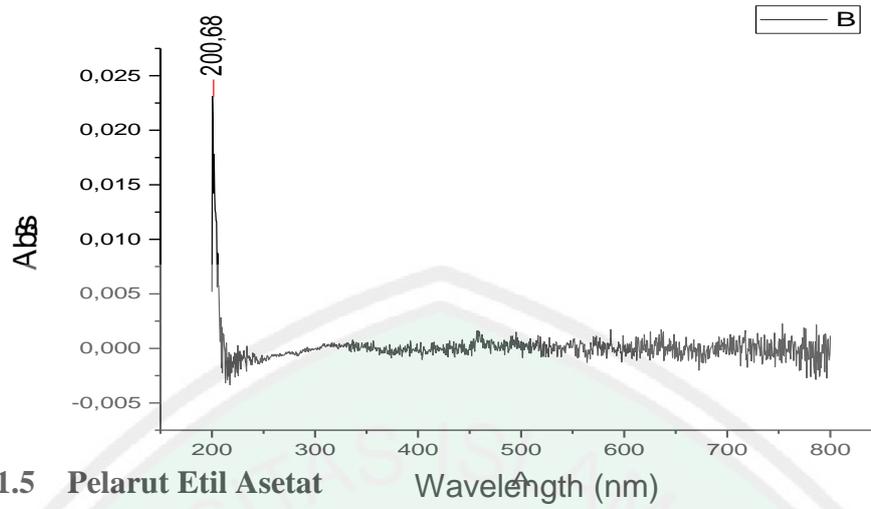
Wavelength (nm)	Abs
206	1,010115
238	2,179793
274	0,988123
319	0,846827
406,5	2,368913
665	0,814705

7.1.3 Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*

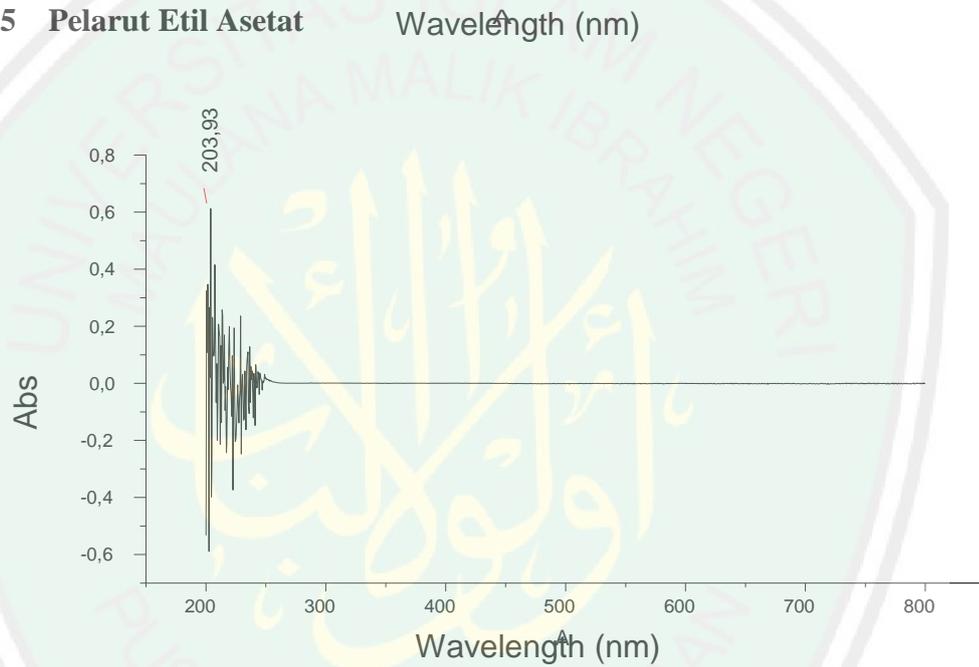


Wavelength (nm)	Abs
210	2,293942
225	2,111512
275	0,805171
317,5	0,604216
408,5	1,786497
668	0,754958

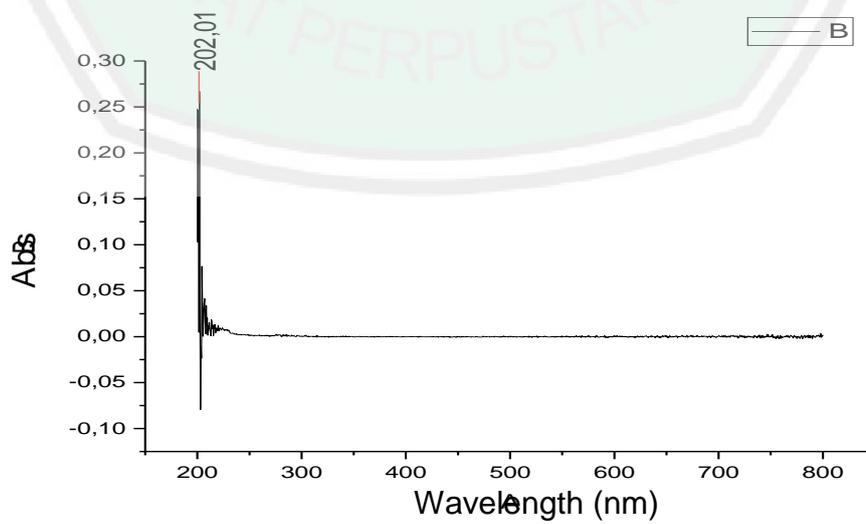
7.1.4 Pelarut Metanol



7.1.5 Pelarut Etil Asetat

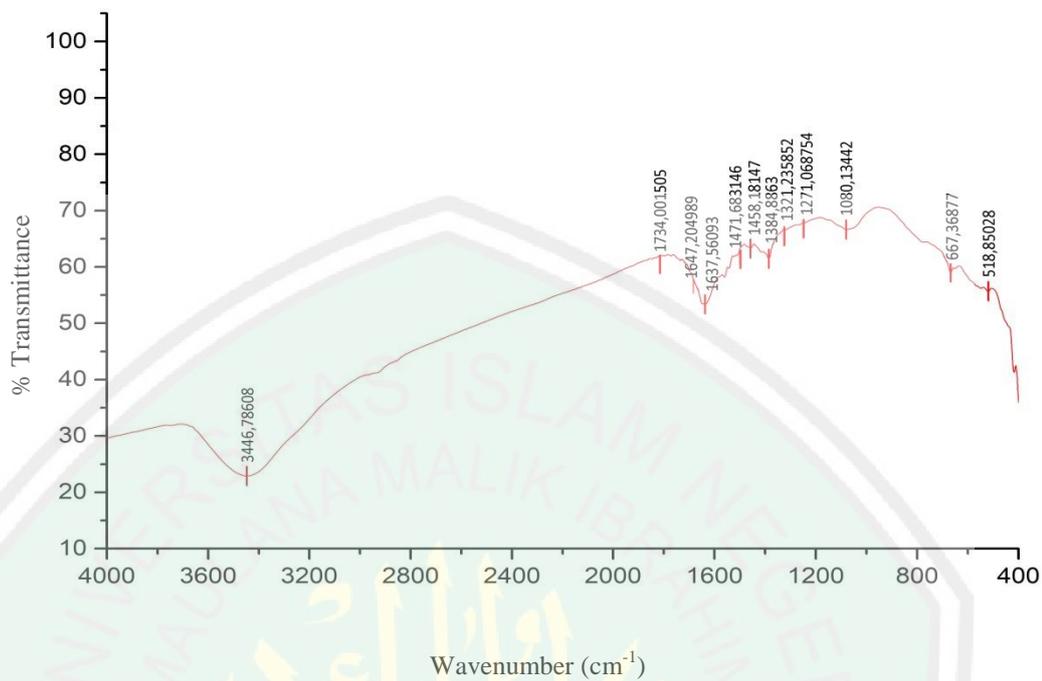


7.1.6 Pelarut Petroleum Eter



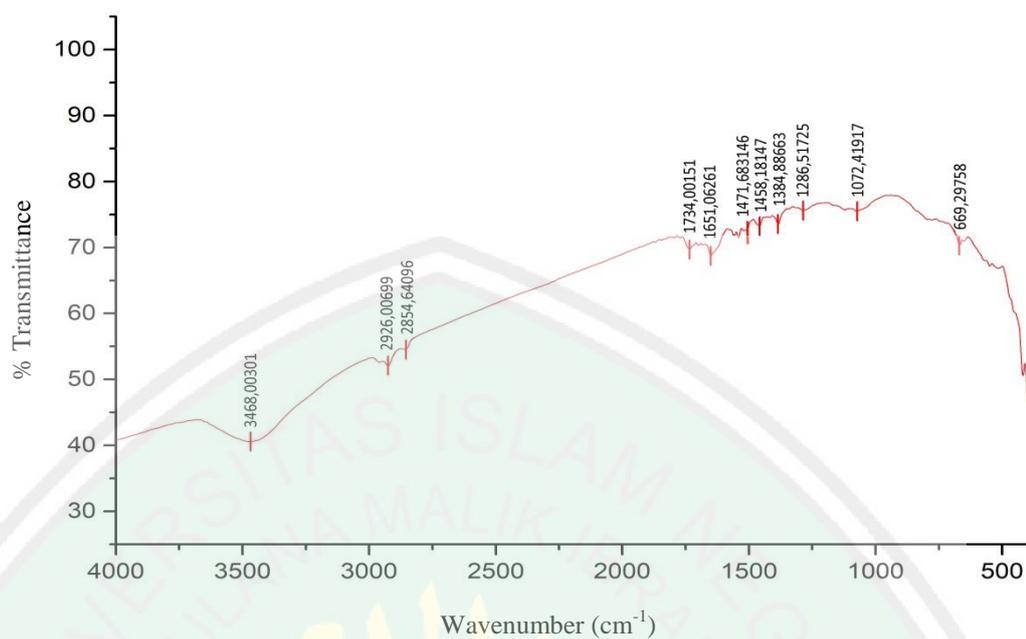
7.2 Hasil Identifikasi Menggunakan FTIR

7.2.1 Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*



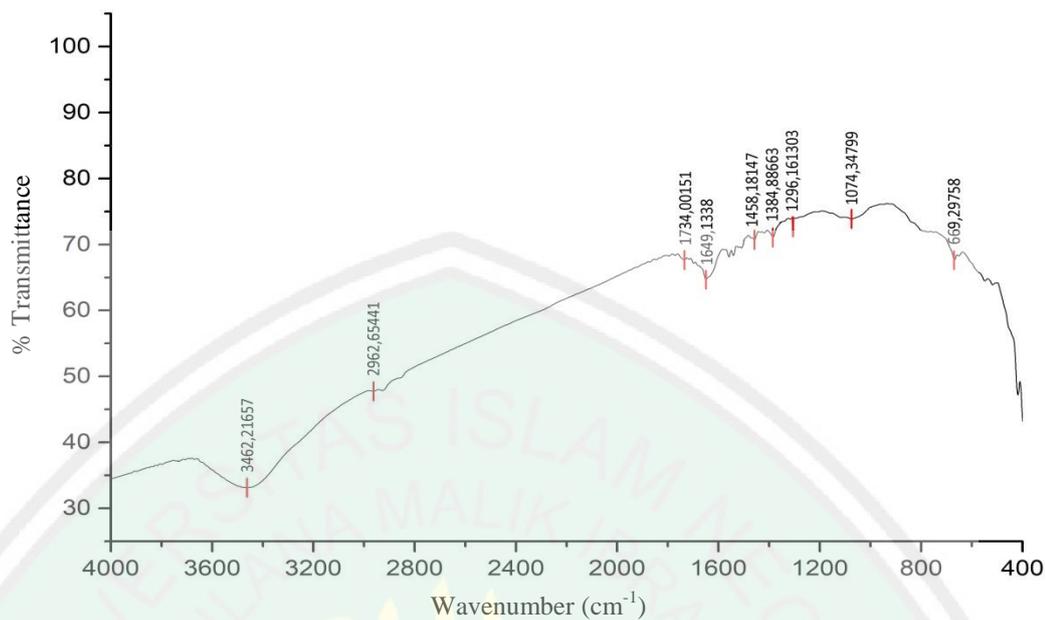
Wavenumber (cm ⁻¹)	Abs
518,850283	55,706996
667,368766	59,024525
1080,134419	66,636777
1271,086754	67,497139
1321,235852	66,632038
1384,88663	61,490339
1458,181466	63,253348
1471,683146	63,608279
1637,560932	53,389061
1647,204989	53,424917
1734,001505	61,246068
3446,786083	22,895534

7.2.2 Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata*



Wavenumber (cm ⁻¹)	Abs
669,297577	70,347617
1072,419173	75,502289
1120,63946	75,740517
1286,517245	75,640856
1384,88663	73,572623
1458,181466	73,219756
1471,683146	63,608279
1558,479662	71,523923
1651,062612	68,7512
1734,001505	69,720449
2854,640964	54,526449
2926,006988	52,103937
3468,003009	40,575929

7.2.3 Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*



Wavelength (cm ⁻¹)	Abs
669,297577	67,679726
1074,347985	73,895078
1296,161303	74,008375
1384,88663	71,08083
1458,181466	70,71300
1558,479662	68,184239
1649,1338	64,669913
1734,001505	67,659554
2962,654406	47,750462
3462,216575	33,139676

Lampiran 8. Dokumentasi

8.1 Preparasi Sampel



H. Verticillata basah



Pengeringan



H. Verticillata kering



H. Verticillata 90 mesh

8.2 Analisis Kadar Air



Pengovenan cawan kosong



Desikator cawan kosong



Penimbangan cawan kosong



Pengovenan cawan kosong+sampel



Desikator cawan kosong+sampel



Penimbangan cawan kosong+sampel

8.3 Ekstraksi Maserasi, Hidrolisis dan Partisi



Proses ekstraksi maserasi



Penambahan pelarut



Proses shaker



Penyaringan dengan Buchner



Filtrat ekstrak *Hydrilla*



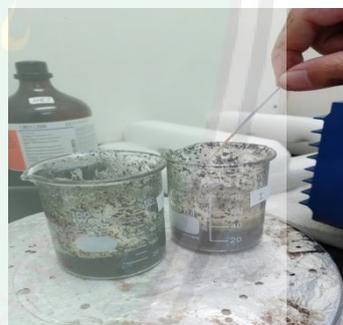
Proses *Rotary evaporator*



Ekstrak metanol *Hydrilla* setelah pemberian N_2



Pembuatan larutan $NaHCO_3$ jenuh



Proses hidrolisis



Partisi dengan pelarut Etil asetat



Partisi dengan pelarut petroleum eter



Hasil fraksi etil asetat dan petroleum eter *Hydrilla verticillata*

8.4 Uji Antibakteri



Pembuatan konsentrasi ekstrak



Proses sterilisasi/autoklav



Peremajaan dan inkubasi



Hasil peremajaan



Inokulum stok dan proses inkubasi



Inokulum kerja

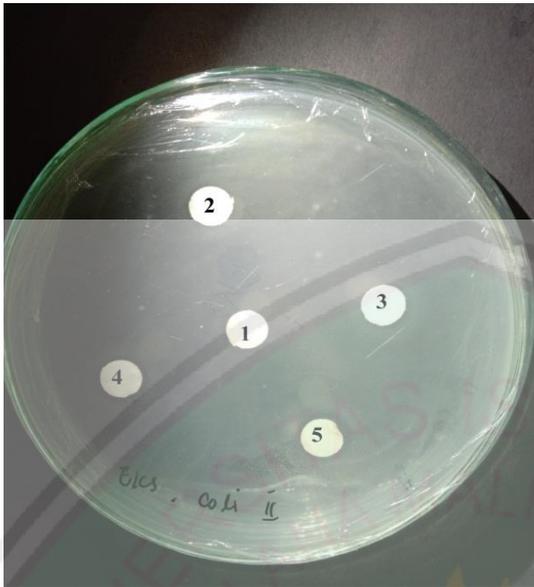


Proses uji antibakteri

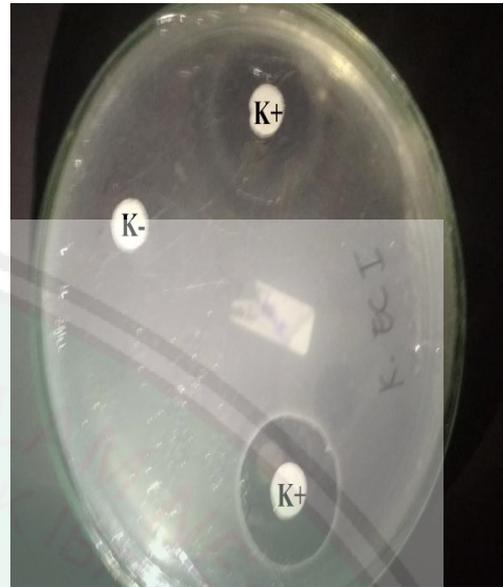


Inkubasi uji antibakteri

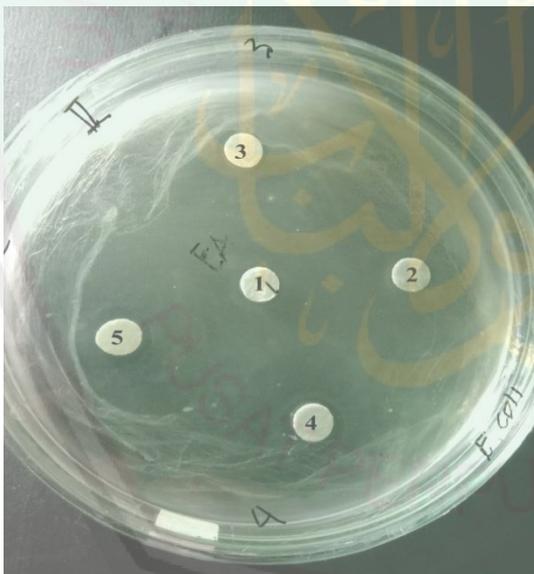
8.4.1 Hasil Uji Antibakteri terhadap bakteri *E.coli*



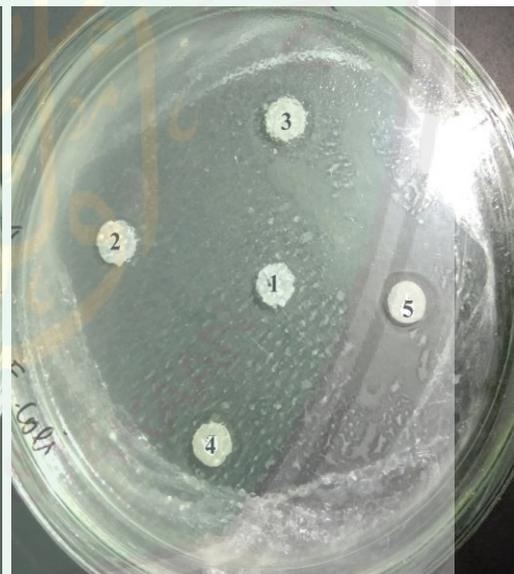
Zona hambat ekstrak metanol



Kontrol positif dan negatif

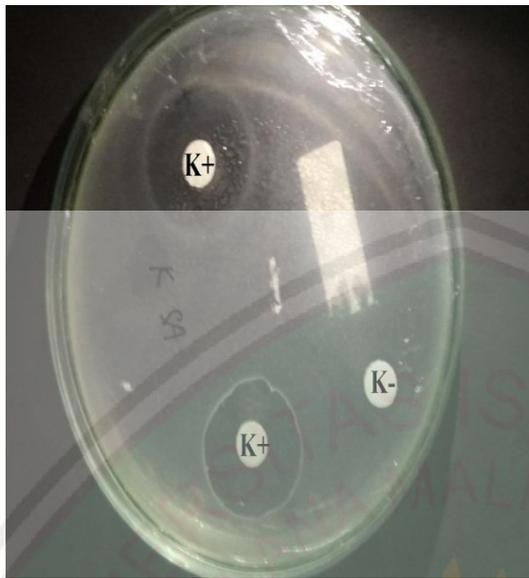


Zona hambat fraksi petroleum eter

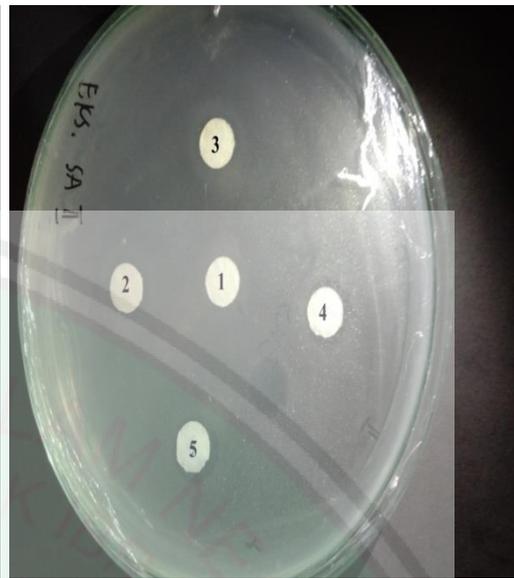


Zona hambat fraksi etil asetat

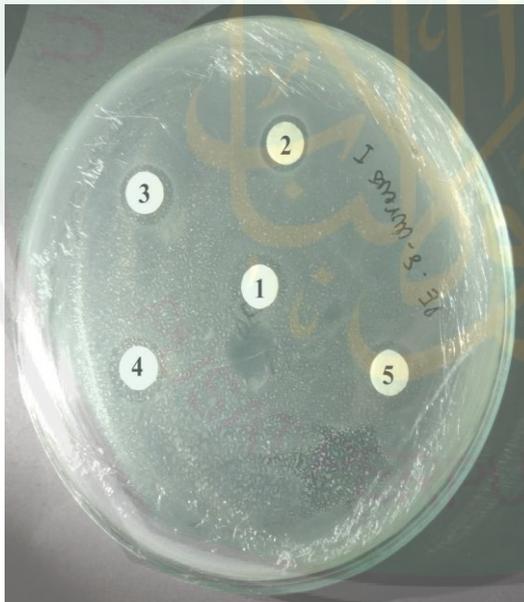
8.4.2 Hasil Uji Antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*



Kontrol positif dan negatif



Zona hambat ekstrak metanol



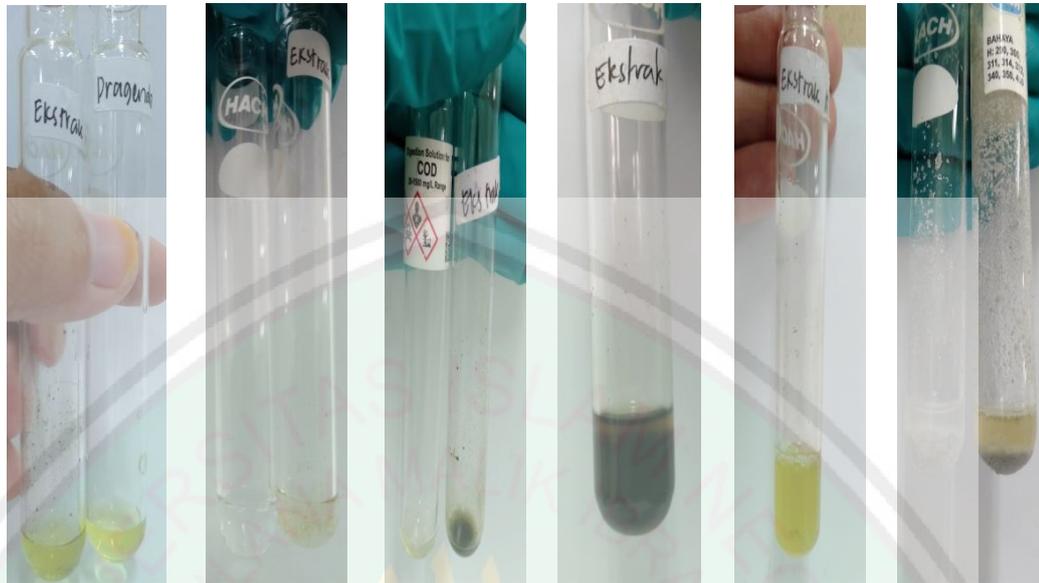
Zona hambat fraksi petroleum eter



Zona hambat fraksi etil asetat

8.5 Uji Fitokimia

8.5.1 Ekstrak Metanol *Hydrilla verticillata*



Alkaloid
dragendorff
(+)

Alkaloid
Meyer (+)

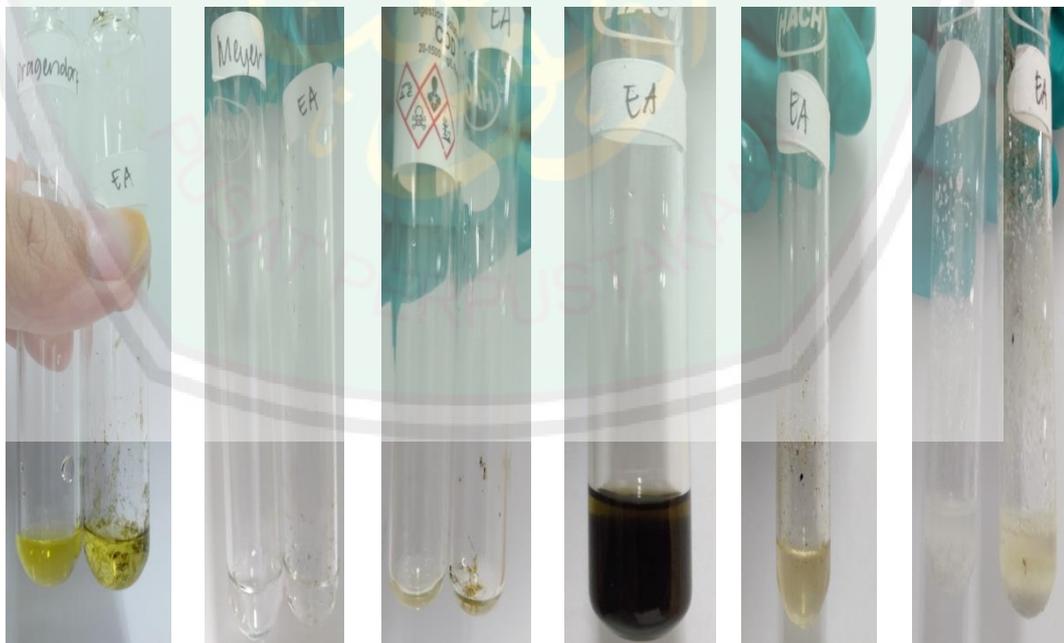
Tanin FeCl₃
(+)
Gelatin (-)

Steroid dan
triterpenoid
(+)

Saponin
(+)

Flavonoid
(+)

8.5.2 Fraksi Etil Asetat *Hydrilla verticillata*



Alkaloid
dragendorff
(-)

Alkaloid
Meyer (-)

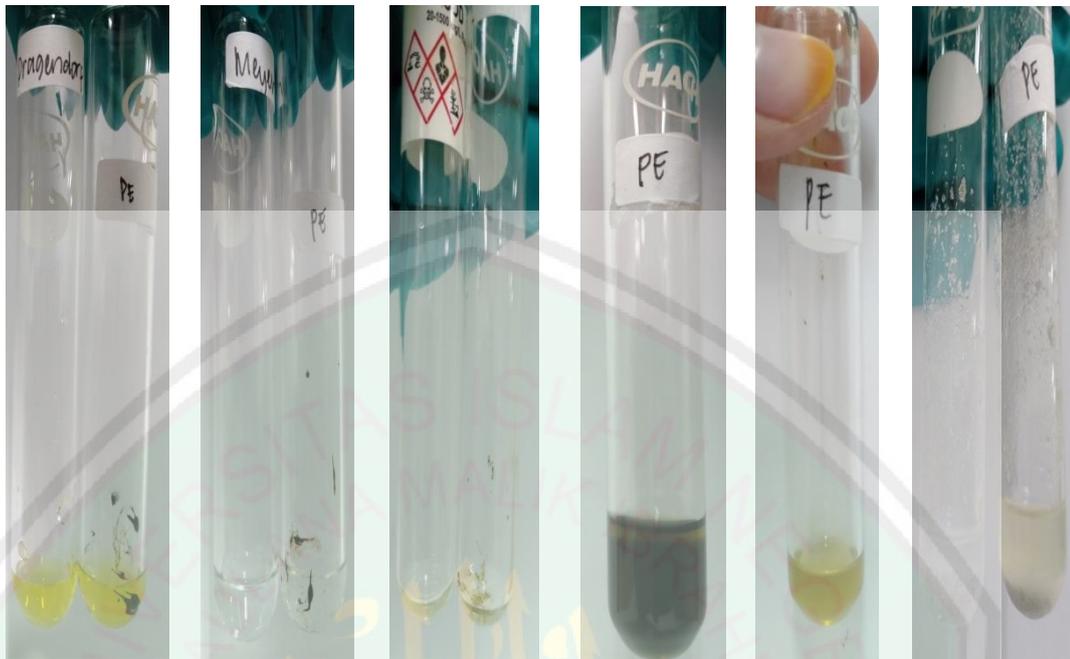
Tanin FeCl₃
(-)
Gelatin (-)

Steroid dan
triterpenoid
(+)

Saponin
(-)

Flavonoid
(+)

8.5.3 Fraksi Petroleum Eter *Hydrilla verticillata*



Alkaloid
dragendorff
(-)

Alkaloid
Meyer (-)

Tanin FeCl₃
(-)
Gelatin (-)

Steroid dan
triterpenoid
(+)

Saponin
(-)

Flavonoid
(-)