

**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI ELISITOR LOGAM Pb TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL *Hydrilla verticillata* DANAU RANU GRATI  
PASURUAN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MUHAMMAD AKMAL FAUZAN**  
NIM. 200603110019



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2025**



**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI ELISITOR LOGAM Pb TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL *Hydrilla verticillata* DANAU RANU GRATI  
PASURUAN**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MUHAMMAD AKMAL FAUZAN  
NIM. 200603110019**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2025**



**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI ELISITOR LOGAM Pb TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL *Hydrilla verticillata* DANAU RANU GRATI  
PASURUAN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MUHAMMAD AKMAL FAUZAN**  
NIM. 200603110019

Telah Diperiksa dan Disetujui:  
Tanggal: 27 Mei 2025

**Pembimbing I**



**A. Ghanaim Fasya, M.Si**  
NIP. 19820616 200604 1 002

**Pembimbing II**



**Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc**  
NIP. 19900906 202321 2 033

Mengetahui,  
Ketua Program Studi



**Rachmawati Ningsih, M.Si**  
NIP. 19810811 200801 2 010



**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI ELISITOR LOGAM Pb TERHADAP AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL *Hydrilla verticillata* DANAU RANU GRATI  
PASURUAN**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MUHAMMAD AKMAL FAUZAN**  
NIM. 200603110019

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 12 Juni 2025

Ketua Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010

Anggota Penguji I : Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si  
NIP. 19831226 201903 2 008

Anggota Penguji II : A. Ghanaim Fasya, M.Si  
NIP. 19820616 200604 1 002

Anggota Penguji III : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc  
NIP. 19900906 202321 2 033

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Mengetahui,  
Ketua Program Studi

  
Rachmawati Ningsih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010





## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Akmal Fauzan  
NIM : 200603110019  
Program Studi : Kimia  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Pengaruh Variasi Konsentrasi Elisitor Logam Pb Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol *Hydrilla verticillata* Danau Ranu Grati Pasuruan

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

Malang, 13 Juni 2025  
Yang membuat pernyataan



Muhammad Akmal Fauzan  
NIM 200603110019



## PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan ucapan syukur kepada Allah Swt. saya mempersembahkan skripsi ini untuk:

1. Orang tua saya yang senantiasa memberikan segala daya dan upaya, do'a, nasehat, serta dukungannya untuk membahagiakan anak laki-laki ini. Skripsi ini merupakan bukti bahwa mereka mampu memberikan pendidikan yang terbaik untuk anaknya dengan segala keterbatasan yang ada. Orang tua saya adalah satu-satunya alasan kenapa saya bisa mencapai titik ini. Permohonan maaf anakmu sampaikan, karena belum bisa memberikan yang terbaik. Hanya Allah Swt. yang bisa membalas segala kebaikan yang kalian berikan.
2. Bu Elok yang telah mendengarkan keluh kesah saya terkait masalah yang saya hadapi pada proses pengerjaan skripsi dan menyemangati saya.
3. Bu Tara Sekeluarga yang telah memberi kesempatan untuk belajar, menyemangati dan membantu saya selama mengajar Khaliffa Raffi.
4. Seluruh anggota tim hydrilla 2020, terima kasih untuk dukungan, bantuan, kekompakan, dan motivasinya. Tanpa bantuan kalian, skripsi ini tidak akan selesai.
5. Teman-teman AURUM angkatan 2020, terima kasih telah memberi warna dalam proses kuliah S1 saya.
6. Teman dekat saya di rumah (Syahreza, Bima, Farel) yang menemani dan memotivasi saya sehingga tidak menyerah hingga skripsi ini selesai.



## **MOTTO**

**“Sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat bagi manusia lain”**

Saya berusaha untuk menjadi lebih baik untuk bisa memberi manfaat bagi orang lain dan lingkungan.



## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum wr. wb.*

*Alhamdulillahirobbil'alamin*, segala puji syukur kehadiran Allah Swt. yang telah memberikan limpahan rahmat, hidayah serta taufik-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir yang berjudul **“Pengaruh Variasi konsentrasi Elisitor Logam Pb Terhadap Kadar Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol *Hydrilla verticillata* Danau Ranu Grati Pasuruan”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) dengan sebaik dan semaksimal mungkin walau jauh dari kata sempurna. Selawat serta salam saya haturkan kepada Rasulullah Muhammad saw. yang telah menuntun umat manusia dari jalan kegelapan ke jalan terang benderang yakni *addinul Islam*. Semoga dengan apa yang saya upayakan dan kerjakan dapat bermanfaat untuk ke depannya agar menjadi ilmu yang bermanfaat serta berkah. Aamiin.

Selama proses penulisan tugas akhir ini saya banyak mendapatkan bimbingan, dukungan, nasihat serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu saya selaku penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, M.A. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia serta seluruh dosen jurusan kimia dan laboran yang telah memberikan pengarahan serta bimbingan selama penyusunan.
4. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si. selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan pengarahan serta bimbingan selama proses penyusunan proposal penelitian hingga skripsi.
5. Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan pengarahan serta bimbingan selama proses penyusunan proposal penelitian hingga skripsi.

Saya selaku penulis sadar bahwa dalam penulisan proposal penelitian ini masih banyak kekurangan, maka dari itu penulis ingin mengharapkan saran dan kritik yang membangun agar penyusunan proposal penelitian ini dapat membawa manfaat ke depannya untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan penelitian selanjutnya.  
*akhirul kalam, Wassalamualaikum wr. wb.*

Malang, 13 Juni 2025

Penulis



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	vi
PERSEMBAHAN.....	ix
MOTTO.....	xi
KATA PENGANTAR .....	xiii
DAFTAR ISI .....	xv
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xix
DAFTAR LAMPIRAN .....	xxi
ABSTRAK .....	xxiii
ABSTRACT .....	xxv
مستخلص البحث .....	xxvii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Batasan Masalah.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 <i>Hydrilla Verticillata</i> .....	5
2.2 Elisitasi Menggunakan Logam Berat Timbal (Pb) .....	6
2.3 Metode UAE ( <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> ).....	8
2.4 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH.....	9
2.5 Uji Total Fenolik.....	11
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>13</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.2.1 Alat .....	13
3.2.2 Bahan .....	13
3.3 Rancangan Penelitian .....	13
3.4 Tahapan Penelitian .....	14
3.5 Prosedur Penelitian .....	14
3.5.1 Pengambilan Sampel <i>Hydrilla verticillata</i> .....	14
3.5.2 Aklimatisasi Sampel <i>Hydrilla verticillata</i> dan Kontrol .....	14
3.5.3 Preparasi Larutan Stok Logam Pb .....	14
3.5.4 Pemaparan Sampel <i>Hydrilla verticillata</i> dengan Larutan Logam Pb .....	14
3.5.5 Pengeringan Sampel <i>Hydrilla verticillata</i> .....	15
3.5.6 Ekstraksi Sonikasi Sampel <i>Hydrilla verticillata</i> dengan Pelarut Etanol.....	15
3.5.7 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH .....	15
3.5.8 Uji Aktivitas Antioksidan <i>Hydrilla verticillata</i> Menggunakan Metode DPPH.....	15
3.5.9 Uji Kadar Total Fenolik Sampel <i>Hydrilla verticillata</i> .....	16
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>17</b>
4.1 Pengambilan Sampel <i>Hydrilla</i> .....	17
4.2 Aklimatisasi .....	17

4.3 Elisitasi Logam Berat Timbal (Pb) Terhadap <i>Hydrilla verticillata</i> .....	18
4.4 Preparasi Biomassa <i>Hydrilla verticillata</i> .....	20
4.5 UAE (Ultrasonic Assisted Extraction) Terhadap Biomassa <i>Hydrilla verticillata</i> .....	21
4.6 Uji Aktvitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH .....	22
4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	22
4.6.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Sampel <i>Hydrilla verticillata</i> .....	23
4.7 Uji Kadar Total Fenol.....	25
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	<b>27</b>
5.1 Kesimpulan.....	27
5.2 Saran.....	27
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>29</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>35</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 4.1</b> Perubahan fisiologis <i>H. verticillata</i> setelah aklimatisasi.....	17
<b>Tabel 4.2</b> Pengamatan kondisi fisiologis <i>H. verticillata</i> selama proses elisitasi .....	19
<b>Tabel 4.3</b> Perbandingan warna variasi konsentrasi elisitor .....	19
<b>Tabel 4.4</b> Rata-rata rendemen serbuk hasil elisitasi .....	20
<b>Tabel 4.5</b> Rata-rata persen kadar air serbuk hasil elisitasi.....	21
<b>Tabel 4.6</b> Sebaran standar deviasi rendemen ekstrak terhadap rata-rata sampel.....	21
<b>Tabel 4.7</b> Nilai $EC_{50}$ ekstrak <i>H. verticillata</i> hasil elisitasi.....	23



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Tanaman <i>H. verticillata</i> .....	5
<b>Gambar 2.2</b> Reaksi antioksidan dengan DPPH .....	10
<b>Gambar 2.3</b> Reaksi senyawa fenol dengan reagen Follin-Ciocalteu .....	12
<b>Gambar 4.1</b> Kondisi fisiologis <i>H. verticillata</i> setelah aklimatisasi .....	18
<b>Gambar 4.2</b> Panjang gelombang DPPH 0,2 mM .....	22



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1</b> Rancangan Penelitian .....	35
<b>Lampiran 2</b> Diagram Alir Penelitian.....	36
<b>Lampiran 3</b> Perhitungan .....	41
<b>Lampiran 4</b> Hasil dan Pembahasan .....	44
<b>Lampiran 5</b> Bukti Dokumentasi Penelitian.....	64
<b>Lampiran 6</b> Rancangan Anggaran Penelitian Skripsi .....	66
<b>Lampiran 7</b> Jadwal Pelaksanaan Penelitian Skripsi .....	67



## ABSTRAK

Fauzan, M. A. 2025. **Pengaruh Variasi konsentrasi Elisitor Logam Pb Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol *Hydrilla verticillata* Danau Ranu Grati Pasuruan**. *Skripsi*. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: A. Ghanaim Fasya, M. Si.; Pembimbing II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc.

---

Kata kunci: antioksidan, elisitasi, hydrilla, logam Pb

*Hydrilla verticillata* merupakan salah satu tumbuhan air yang memiliki kandungan metabolit sekunder di dalamnya. Metabolit sekunder dalam *H. verticillata* memiliki beberapa manfaat, salah satunya adalah sebagai antioksidan. Produksi senyawa antioksidan dalam *H. verticillata* dapat ditingkatkan dengan elisitasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi elisitor logam Pb terhadap kadar antioksidan ekstrak etanol *food grade* tumbuhan *Hydrilla verticillata*. Tahapan penelitian meliputi sampling *H. verticillata* dari danau Ranu Grati pasuruan, aklimatisasi selama 14 hari, elisitasi dengan logam Pb variasi konsentrasi (0, 30, 35, 40, 45, dan 50 ppm) selama 7 hari, preparasi biomassa *H. verticillata*, ekstraksi menggunakan metode UAE, uji antioksidan sampel dan uji total fenol sampel. Hasil menunjukkan terjadi perubahan fisiologis setelah dilakukan aklimatisasi dan elisitasi. Pada aklimatisasi terjadi penurunan biomassa sebesar 9,958%. Pemaparan elisitor menyebabkan berkurangnya warna hijau pada daun dan batang akibat penurunan produksi klorofil. Uji kadar air menunjukkan nilai semua ekstrak di bawah 10%. Rendemen ekstrak yang diperoleh menunjukkan nilai paling tinggi pada konsentrasi 40 ppm dengan persen rata-rata sebesar 4,94%. Uji antioksidan menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak hasil elisitasi. Hasil terbaik pada konsentrasi 40 ppm dengan nilai  $EC_{50}$  sebesar 119,473 ppm dengan kategori sedang. Uji total fenol menunjukkan adanya peningkatan nilai TPC dari 0 ppm ke 40 ppm dari 11,6867 mg GAE/g menjadi 51,3433 mg GAE/g.



## ABSTRACT

Fauzan, M. A. 2025. **The Effect of Variations in Pb Metal Elicitor Concentration on Antioxidant Activity of Ethanol Extract of *Hydrilla verticillata* Lake Ranu Grati Pasuruan.** *Thesis.* Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University, Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: A. Ghanaim Fasya, M. Si.; Supervisor II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc.

---

**Keyword:** antioxidant, elicitation, hydrilla, Pb metal

*Hydrilla verticillata* is one of the aquatic plants that contains secondary metabolites. Secondary metabolites in *H. verticillata* have several benefits, one of which is as an antioxidant. The production of antioxidant compounds in *H. verticillata* can be increased by elicitation. This study aims to determine the effect of variations in the concentration of Pb metal elicitors on the antioxidant content of food grade ethanol extract of *Hydrilla verticillata* plants. The research stages include sampling *H. verticillata* from Ranu Grati Pasuruan Lake, acclimatization for 14 days, elicitation with Pb metal at various concentrations (0, 30, 35, 40, 45, and 50 ppm) for 7 days, preparation of *H. verticillata* biomass, extraction using the UAE method, sample antioxidant test and sample total phenol test. The results showed physiological changes after acclimatization and elicitation. In acclimatization, there was a decrease in biomass of 9.958%. Exposure to elicitors causes a decrease in the green color of leaves and stems due to decreased chlorophyll production. Water content tests showed that all extracts were below 10%. The yield of the extract obtained showed the highest value at a concentration of 40 ppm with an average percentage of 8.20%. Antioxidant tests showed an increase in the antioxidant activity of the elicitation extract. The best results were at a concentration of 40 ppm with an EC50 value of 119.473 ppm in the moderate category. Total phenol tests showed an increase in the TPC value from 0 ppm to 40 ppm from 11.6867 mg GAE/g to 51.3433 mg GAE/g.



## مستخلص البحث

فوزان، م. أ. ٢٠٢٥. تأثير تباين تركيز مُستحث معدن الرصاص على مستوى النشاط المضاد للأكسدة في المستخلص الإيثانولي لنبات هيدريلا فريتيسيلاتا، بحيرة رانو غراتي باسوروان. أطروحة. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية، مالانج. المشرف الأول: أ. غانم فاسيا، ماجستير في العلوم؛ المشرفة الثاني: لؤلؤة الحميدات العلبا، ماجستير في العلوم.

الكلمات المفتاحية: مضاد للأكسدة، استثارة، نبات هيدريلا، معدن الرصاص

هيدريلا فريتيسيلاتا هي واحدة من النباتات المائية التي تحتوي على مجموعة من المركبات الثانوية ذات الفوائد البيولوجية المتنوعة، بما في ذلك خصائصها كمضادات أكسدة. يمكن تعزيز إنتاج هذه المركبات في هيدريلا فريتيسيلاتا من خلال عملية الإيلستاسيون تهدف هذه الدراسة إلى تقييم تأثير تراكيز مختلفة من معدن الرصاص كمحفز على مستوى النشاط المضاد للأكسدة في مستخلص الإيثانول من نبات هيدريلا فريتيسيلاتا. شملت منهجية البحث جمع عينات من نبات هيدريلا فريتيسيلاتا من بحيرة رانو غراتي في باسوروين، وإجراء عملية تأقلم لمدة ١٤ يومًا، تلتها عملية إيلستاسيون باستخدام تراكيز متفاوتة من معدن الرصاص (٠، ٣٠، ٤٠، ٤٥، و ٥٠ جزء في المليون) لمدة ٧ أيام. تم تحضير الكتلة الحيوية للنبات، واستخلاص المركبات باستخدام طريقة، ثم إجراء اختبارات لتحديد النشاط المضاد للأكسدة واختبار إجمالي الفينولات في المستخلصات. أظهرت النتائج حدوث تغيرات فسيولوجية ملحوظة بعد التأقلم والإيلستاسيون، حيث لوحظ انخفاض في الكتلة الحيوية بنسبة ٩,٩٥٨٪ خلال مرحلة التأقلم. كما أدى تعرض النباتات للإيلستاسيون إلى تقليل اللون الأخضر في الأوراق والسيقان بسبب انخفاض إنتاج الكلوروفيل. أظهرت نتائج اختبار محتوى الماء أن جميع العينات كانت تحتوي على نسبة مئوية أقل من ١٠٪. بالنسبة لعائد الاستخلاص، كانت أعلى قيمة عند التركيز ٤٠ جزء في المليون، حيث بلغ العائد المتوسط ٨,٢٠٪. أما في ما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة، فقد أظهرت النتائج زيادة ملحوظة في النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات الناتجة عن الإيلستاسيون، حيث كان أعلى نشاط عند التركيز ٤٠ جزء في المليون، مع قيمة  $EC_{50}$  بلغت ١١٩,٤٧٣ جزء في المليون، مما يضع النشاط ضمن فئة النشاط المتوسط. من جهة أخرى، أظهرت اختبارات إجمالي الفينولات زيادة في القيمة الإجمالية للفينولات من ١١,٦٨٦٧ ملغ GAE/g إلى ٥١,٣٤٣٣ ملغ GAE/g عند الانتقال من ٠ إلى ٤٠ جزء في المليون. تُظهر هذه النتائج أن الإيلستاسيون باستخدام معدن الرصاص يمكن أن يُحسن من النشاط المضاد للأكسدة وإنتاج المركبات الفينولية في هيدريلا فريتيسيلاتا، مما يفتح آفاقًا لاستخدام هذه التقنية في تحسين محتوى المركبات الفعالة في النباتات المائية



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Allah Berfirman dalam Dalam Al-Qur'an surat Shadd (38): 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ

Artinya: “Dan kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya dengan sia-sia. Itu anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang yang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.” (QS Shadd: 27)

Menurut tafsir Jalalayn yang dimaksud dengan lafadz بَطْلًا adalah dengan main-main.

Makna dari penggalan ayat ini adalah Allah Swt. tidak menciptakan sesuatu dengan main-main atau tanpa makna. Selalu terdapat hikmah dibalik semua penciptaan makhluk. Hanya orang-orang kafir yang beranggapan bahwa penciptaan makhluk tidak memiliki hikmah. Salah satu makhluk yang dianggap sebagai gulma namun memiliki manfaat dibaliknya adalah *H. verticillata* (Al-Mahalli, 1990).

*Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle merupakan jenis tumbuhan air yang tersebar di seluruh dunia. *H. verticillata* tumbuh di bawah permukaan air tawar maupun payau dengan laju pertumbuhan yang cepat. Bagian tubuh dari tumbuhan ini dapat menumbuhkan akar-akar baru dengan cepat. Dengan sinar matahari yang cukup, *H. verticillata* mampu tumbuh dengan sangat cepat. *H. verticillata* tumbuh dengan kecepatan sekitar satu inci per hari sampai akhirnya mendekati permukaan air. Ketika sudah mendekati permukaan air, *H. verticillata* akan mulai menumbuhkan banyak percabangan. *H. verticillata* tumbuh dengan seluruh bagian tanaman terendam dalam air dengan akar menempel pada dasar, namun terkadang beberapa bagian dapat lepas dan mampu hidup mengapung bebas (Langeland, 1996). *H. verticillata* dapat ditemukan di beberapa perairan di Indonesia seperti pada habitat rawa kecamatan Bati-Bati Kalimantan Selatan (Rabiatul, dkk., 2020), Danau Toba (Ginting, dkk., 2022), dan Danau Rawa Pening (Meling, dkk., 2024). Salah satu danau yang menjadi fokus penelitian *H. verticillata* ini adalah Danau Ranu Grati, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur.

Di Indonesia, *H. verticillata* masih belum banyak dimanfaatkan karena kurangnya pengetahuan masyarakat terhadap tumbuhan ini. Berbeda dengan negara-negara maju yang sudah mampu mengembangkan obat-obatan dari *H. verticillata* (Pal, dkk., 2006). Selain itu, *H. verticillata* juga berpotensi sebagai tumbuhan yang mampu menyerap logam berat dalam air (Phukan, dkk., 2016). *H. verticillata* mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Sifat antioksidan ini dapat dimanfaatkan untuk melawan radikal bebas penyebab penyakit kanker. Namun, kandungan metabolit

sekunder yang terkandung dalam *H. verticillata* pada kondisi normal sangat terbatas sehingga perlu adanya elisitasi.

Elisitasi merupakan metode penambahan material abiotik maupun biotik ke dalam sel tumbuhan dengan tujuan untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder sebagai respon tumbuhan mempertahankan diri (Eddijanto, dkk., 2022). Peningkatan produksi metabolit sekunder pada tumbuhan yang dielisitasi meningkat seiring dengan kenaikan kadar elisitor. Namun, tumbuhan memiliki batas toleransi tertentu terhadap penambahan elisitor. Penambahan elisitor melebihi batas toleransi tumbuhan akan menyebabkan rusaknya tumbuhan. Pada penelitian Izatul, (2023) menggunakan variasi konsentrasi logam Cd sebagai elisitor terhadap *H. verticillata* dan ekstraksi menggunakan etanol. Hasil penelitian menunjukkan terjadi peningkatan kadar aktivitas antioksidan akibat adanya variasi konsentrasi elisitasi, namun peningkatan masih belum optimal. Peningkatan kadar aktivitas antioksidan terbaik terlihat pada konsentrasi Cd 7 ppm dengan nilai  $EC_{50}$  239,54 ppm.

Salah satu elisitor abiotik adalah logam berat seperti logam Pb. Logam Pb dapat digunakan sebagai elisitor bagi tumbuhan *H. verticillata*. Namun, tingkat toleransi tumbuhan *H. verticillata* sangat tinggi terhadap logam berat Pb (Gupta & Candra, 1994) mengatakan bahwa *H. verticillata* ditemukan sangat toleran terhadap peningkatan konsentrasi logam Pb dan mengakumulasinya 2,56  $\mu\text{mol Pb/g}$  setelah 96 jam pada 10  $\mu\text{M}$ . Hasil ini menunjukkan bahwa *H. verticillata* memiliki mekanisme detoksifikasi seluler untuk logam Pb yang telah masuk ke intraseluler telah mempengaruhi tingkat seluler sistein, glutathione, tiol yang larut dalam asam. Konsentrasi yang rendah dari logam Pb pada *H. verticillata* akan menghasilkan tingkat stress oksidatif tanaman yang rendah. Gupta & Candra (1994) melaporkan bahwa tingkat konsentrasi Pb yang rendah (hingga 5,0  $\mu\text{M}$ ) menghasilkan peningkatan yang rendah dalam produksi kandungan klorofil dan protein pada *H. verticillata*.

Berdasarkan penjelasan latar belakang di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh variasi konsentrasi logam Pb sebagai elisitor untuk meningkatkan produksi senyawa antioksidan dari *H. verticillata*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana pengaruh variasi konsentrasi elisitor logam Pb terhadap kadar antioksidan ekstrak etanol *food grade* tumbuhan *Hydrilla verticillata*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan pada penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi elisitor logam Pb terhadap kadar antioksidan ekstrak etanol *food grade* tumbuhan *Hydrilla verticillata*.

#### 1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah pada penelitian ini, yaitu:

1. Sampel yang digunakan adalah tumbuhan *Hydrilla verticillata* yang berasal dari danau Ranu Grati, Pasuruan, Jawa Timur.
2. Logam yang digunakan sebagai elisitor adalah logam timbal (Pb) dalam bentuk  $Pb(NO_3)_2$  dengan variasi konsentrasi 0, 30, 35, 40, 45, dan 50 ppm dengan pengulangan sebanyak 3 kali.
3. Ekstraksi menggunakan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dengan pelarut etanol *food grade* selama 40 menit.
4. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) dan dinyatakan dalam nilai  $EC_{50}$ .

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat maupun lembaga akademisi mengenai potensi kadar antioksidan ekstrak kasar *H. verticillata* Danau Ranu Grati, Pasuruan yang telah terelisitasi dengan logam berat timbal (Pb) sehingga dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi. Selain itu dengan mengetahui konsentrasi optimal elisitasi logam berat timbal (Pb) dapat digunakan sebagai sebagai studi lanjut untuk penelitian elisitasi menggunakan tumbuhan *H. verticillata*.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Hydrilla Verticillata*

Tumbuhan *H. verticillata* merupakan tumbuhan Spermatophyta yang hidup pada air tawar, seperti waduk dan danau dengan air relatif jernih atau tidak keruh. *H. verticillata* dapat ditemukan pada perairan hangat hingga dingin dari Asia, Afrika, Australia, dan tersebar di Eropa. *H. verticillata* berasal dari Afrika dan dibawa ke Amerika Serikat sebagai tanaman hias kemudian tersebar luas di negara-negara selatan seperti Washington, Indiana dan Maine. Hydrilla kurang toleran terhadap dingin (Dulay, 2010). Meskipun *H. verticillata* merupakan tumbuhan Spermatophyta, namun bentuk adaptasinya berbeda dari Spermatophyta darat. *H. verticillata* memiliki dinding sel yang tebal untuk mencegah osmosis air yang dapat menyebabkan lisisnya sel. *H. verticillata* memiliki daun kecil berbentuk lanset yang tersusun mengelilingi batang, daun mengandung klorofil sehingga berwarna hijau.



**Gambar 2.1** Tanaman *H. verticillata*

Pertumbuhan *H. verticillata* dipengaruhi oleh cahaya yang digunakan untuk berfotosintesis (Phukan, dkk., 2015). *H. verticillata* memiliki mekanisme reproduksi vegetatif dengan stolon yang memungkinkan penyebaran pertumbuhan secara cepat sehingga dianggap sebagai gulma yang mengganggu ekosistem perairan. *H. verticillata* hidup berkoloni dan dapat tumbuh dipermukaan air hingga kedalaman 20 kaki. Keberadaan *H. verticillata* dengan jumlah yang banyak dapat menjadi penghambat pertumbuhan organisme perairan lain. Hal ini disebabkan karena koloni *H. verticillata* dapat menutupi permukaan air dan menghalangi cahaya matahari masuk ke dasar perairan sehingga kadar oksigen menurun (Pratiwi, 2021). Karena jumlahnya yang melimpah dan kurangnya informasi terkait kandungan pada *H. verticillata*, pemanfaatan *H. verticillata* oleh masyarakat masih belum

optimal. Masyarakat hanya menganggap *H. verticillata* sebagai tanaman hias atau bahkan gulma.

Klasifikasi *H. verticillata* menurut Ramesh, dkk. (2014) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (tumbuhan berpembuluh)
Super divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (berkeping satu/monokotil)
Subkelas	: Alismatidae
Ordo	: Hydrocharitales
Famili	: Hydrocharitaceae
Genus	: Hydrilla
Spesies	: <i>Hydrilla verticillata</i> (L.f) Royle
Nama Umum	: <i>Hydrilla verticillata</i> (L.f) Royle
Nama Indonesia	: Ganggang, Ganggeng (Jawa),
Nama Inggris	: <i>Water Thyme</i>

*H. verticillata* merupakan bagian dari ekosistem danau yang memiliki peran sebagai sumber daya langsung maupun tidak langsung (Tanor, 2004). *H. verticillata* efektif dalam penurunan pencemaran limbah atau bahan pencemar karena seluruh bagian tumbuhan terendam air. Keefektifan *H. verticillata* dalam penurunan bahan pencemar sebagai sumber daya langsung yaitu dengan mengabsorpsi polutan sebagai nutrisi. Sedangkan secara tidak langsung yaitu sebagai media pertumbuhan mikroorganisme untuk dapat menguraikan bahan pencemar (Basiru, 2015).

Berdasarkan komponen yang terkandung di dalamnya, *H. verticillata* berpotensi untuk dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, seperti sebagai antioksidan, antitumor, antimikroba, antibakteri, dan antimalarial (Fasya, dkk., 2019). Selain itu terdapat beberapa nutrisi seperti vitamin B12, zat besi dan kalsium yang bermanfaat dalam memelihara kesehatan mental, mengirim oksigen ke sel-sel, dan menjaga kekuatan tulang (Ginting, dkk., 2023). *H. verticillata* juga dapat digunakan sebagai bioremediator logam berat seperti Cu, Cr, Pb, dan Fe (Susilaningsih, 1992).

## 2.2 Elisitasi Menggunakan Logam Berat Timbal (Pb)

Elisitasi merupakan suatu metode untuk meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder dalam suatu tumbuhan dengan bantuan elisitor. Elisitor adalah suatu senyawa atau molekul yang bekerja dengan cara menstimulasi sistem pertahanan diri tumbuhan untuk meningkatkan produksi senyawa metabolit tertentu sebagai bentuk respon stress oksidatif (Eddijanto, dkk., 2022). Terdapat dua golongan elisitor yang digunakan yaitu, biotik dan

abiotik. Elisitor biotik berupa senyawa organik dari makhluk hidup, seperti polisakarida, kitosan, protein, atau fragmen dinding sel dari bakteri, fungi, atau tumbuhan. Adapun elisitor abiotik berasal dari senyawa atau substansi anorganik seperti logam berat, suhu, pH, cahaya, dll. Logam berat yang dapat digunakan sebagai elisitor dapat berupa logam esensial dan logam non-esensial. Logam berat esensial merupakan logam berat yang dibutuhkan bagi makhluk dalam jumlah sedikit namun pada konsentrasi yang tinggi akan menyebabkan efek buruk dan dapat bersifat racun, seperti logam jasdaofafa. Sedangkan logam berat non esensial merupakan logam yang belum diketahui manfaatnya bahkan dapat bersifat sebagai racun (January, dkk., 2008).

Mekanisme respon tumbuhan terhadap stress akibat adanya elisitor diawali dengan adanya pemicu pada membran plasma sel. Transduksi sinyal elisitor yang diterima reseptor memerlukan adanya pembawa sinyal kedua yang memperkuat sinyal untuk reaksi hilir lainnya. Proses yang terjadi meliputi persepsi elisitor oleh reseptor; fosforilasi dan defosforilasi reversible protein membran plasma dan protein sitosolik; peningkatan kadar ion  $Ca^{2+}$  pada sitosolik; aliran keluarnya ion  $Cl^-$  dan  $K^+$ /masuknya ion  $H^+$  yang merupakan proses alkalinasi ekstraseluler dan pengasaman sitoplasma; aktivasi *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK); aktivasi NADPH oksidase dan produksi spesi oksigen dan nitrogen reaktif (ROS dan RNS); ekspresi gen pertahanan awal; produksi jasmonat; ekspresi gen respon pertahanan akhir, dan akumulasi senyawa metabolit sekunder. Respon dari tumbuhan ini bertujuan untuk mencegah kerusakan yang mengarah pada produksi senyawa antimikroba seperti fitoaleksin dan protein terkait patogenesis. Adanya elisitor juga dapat meningkatkan ketahanan tumbuhan terhadap adanya elisitor pada masa mendatang (Estrada. 2016).

*H. verticillata* memiliki beberapa mekanisme akumulasi logam Pb pada air. Cara pertama melalui mekanisme pertukaran kation. Sel-sel pada akar *H. verticillata* mengandung ion dengan kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan media sekitarnya yang bermuatan negatif. Ketika pada kondisi dimana ion pada sekitar sel-sel akar bermuatan positif, penyerapan logam berat Pb tidak memerlukan energi. Kation akan secara pasif masuk ke dalam sel-sel akar, sedangkan anion diangkut secara aktif ke dalam sel-sel akar tanaman (Foth, 1991).

Cara kedua adalah akar tanaman air akan membentuk senyawa *phytochelatin* dan *metallothioneins* sebagai respon stres logam berat (Anaka, dkk., 2001). *Phytochelatin* merupakan kelompok protein dengan kandungan asam amino sistein, glisin, dan asam glutamat sebagai indikasi stres pada tanaman akibat cekaman logam berat, logam berat akan dibawa menuju vakuola agar tidak menjadi toksik (Suresh & Ravinkar, 2004). *Phytochelatin* memiliki banyak kandungan atom belerang pada asam amino sistein yang mampu mengikat logam pada tanaman. *Metallothionein* adalah zat yang berfungsi untuk menyimpan kelebihan ion-ion logam berat bebas yang dihelasi. *Metallothionein* bertindak

sebagai pembawa kelebihan logam berat dari satu tempat ke tempat lain untuk menghindari efek toksik pada tanaman (Shuresh dan Ravinskar, 2004).

Cara ketiga melalui proses rhizofiltrasi, yaitu absorpsi atau adsorpsi logam berat melalui akar tanaman. Proses akumulasi logam berat oleh tanaman diawali dengan penyerapan logam oleh akar. Logam yang terserap kemudian dibawa ke dalam larutan sekitar akar (rizosfer). Senyawa-senyawa hidrofili akan ikut terbawa bersama dengan air, sedangkan senyawa-senyawa hidrofobik akan diserap oleh permukaan akar. Kemudian logam yang sudah menembus endodermis akar akan mengikuti aliran transpirasi menuju bagian atas tanaman melalui jaringan pengangkut. Logam yang sudah menuju ke bagian lain tanaman akan terlokalisasi pada sel dan jaringan agar logam tidak menghambat metabolisme tanaman. Proses ini bertujuan untuk mencegah sifat toksik dari logam berat merusak jaringan tanaman. Logam yang terakumulasi akan disimpan dalam organ tertentu.

### **2.3 Metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*)**

Metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) merupakan metode ekstraksi dengan memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk meningkatkan efisiensi proses. Gelombang ultrasonik merupakan gelombang suara yang memiliki frekuensi  $\geq 20$  kHz di atas pendengaran manusia (Sholihah, 2017). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi hasil dari UAE diantaranya frekuensi, suhu, daya, jenis pelarut, perbandingan antara pelarut dengan bahan yang akan diekstrak dan lama waktu ekstraksi. Dalam proses ekstraksi, senyawa organik yang terkandung dalam tumbuhan akan larut ke dalam pelarut dengan bantuan gelombang ultrasonik. Adanya gelombang ultrasonik ini menyebabkan dua efek yang berlangsung selama prosesnya, yaitu pelepasan kalor pada cairan dan memecah dinding sel dari sampel (Mason, 1990). Energi kinetik yang dihasilkan akan membentuk gelembung kavitas pada permukaan atau dinding sel sampel sehingga meningkatkan penetrasi pelarut menuju membran sel sampel (Widyaputri, 2022).

. UAE memiliki keunggulan dari beberapa sisi seperti lebih cepat dibanding metode konvensional (Garcia & Castro, 2004), lebih membutuhkan sedikit pelarut (Winata & Yuniarta, 2015), dan peningkatan hasil ekstraksi (Supardan, dkk., 2011). Besarnya frekuensi yang digunakan berkisar antara 20 kHz sampai 500 MHz (Winata & Yuniarta, 2015). Suhu yang digunakan berkisar antara 40-45 °C. Peningkatan suhu akan mempercepat laju ekstraksi, namun suhu yang terlalu tinggi dapat merusak struktur senyawa yang terkandung di dalam tumbuhan sehingga senyawa aktif yang diperoleh akan menurun.

Pelarut merupakan salah satu faktor yang penting dalam melakukan ekstraksi. Ekstraksi akan maksimal dengan pemilihan pelarut yang tepat. Etanol merupakan pelarut dengan sifat polar, sehingga menjadi pelarut yang baik untuk mengikat senyawa aktif yang

bersifat polar maupun semi polar dalam suatu sampel. Dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol *food grade* sebagai pelarut dengan pertimbangan karena memiliki tingkat pencemaran yang lebih rendah dibanding metanol, sehingga memenuhi kaidah *green chemistry*. Kelebihan lain dari etanol *food grade* adalah ketersediannya yang baik, aman untuk penggunaan dalam konteks bahan pangan, titik didih yang relatif lebih rendah pada 78,5 °C, tidak bersifat racun, dan tidak berbahaya (Pratiwi, dkk., 2016). Faktor lain yang mempengaruhi hasil ekstraksi adalah lama waktu ekstraksi. Pada pengujian terdahulu pada ekstraksi *H.versticiilata* diperoleh waktu terbaik yang digunakan dalam penelitian ini adalah 40 menit pada suhu 37 °C. Perbandingan antara biomassa dan pelarut yang digunakan adalah (1:10).

Proses ekstraksi menggunakan alat berupa sonikator *water bath*, dimana memanfaatkan media air untuk merendam sampel yang akan dilalui gelombang ultrasonik. Suhu yang digunakan pada sonikator *water bath* tidak terlalu tinggi, yaitu dibawah 40 °C yang bertujuan untuk mempercepat proses ekstraksi namun masih mempertahankan senyawa aktif dalam sampel agar tidak rusak akibat suhu yang terlalu tinggi (Rengga, 2019). Waktu yang digunakan yaitu 40 menit yang bertujuan untuk meningkatkan penarikan senyawa metabolit sekunder dalam sampel. Selain itu etanol merupakan pelarut polar atau semi polar, sehingga dapat melarutkan gugus glikosida yang terikat pada senyawa metabolit sekunder secara maksimal sesuai dengan prinsip *like dissolve like* (Zhuang, 2021).

#### **2.4 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH**

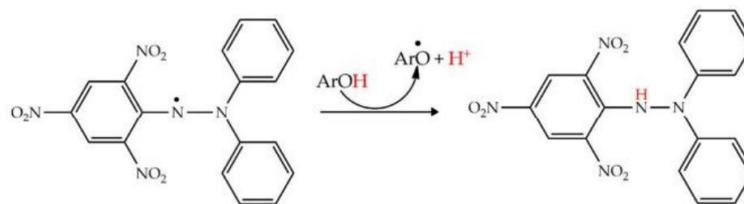
Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan cara mengikat senyawa radikal bebas pada tahapan propagasi dan menghentikan proses tersebut sehingga senyawa radikal tidak akan menyerang sel-sel lain. Senyawa antioksidan mampu memberikan elektron untuk menstabilkan senyawa radikal. Senyawa ini memiliki peranan besar bagi makhluk hidup agar dapat mengurangi dampak kerusakan akibat sel yang tidak stabil karena adanya radikal bebas (Lestario, dkk., 2008).

Metabolit sekunder memiliki struktur, fungsi, dan kadar yang berbeda-beda. Metabolit sekunder yang memiliki sifat antioksidan meliputi senyawa fenolik dan polifenolik. Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih cincin benzen aromatik. Senyawa yang tergolong ke dalam senyawa fenolik adalah asam fenolik, stilbenes, flavonoid, tanin, dan kumarin. Flavonoid adalah senyawa yang memberikan warna dan aroma pada bunga. Flavonoid memiliki manfaat sebagai zat antibakteri, antivirus, antialergi, dan antiinflamasi (Abotaleb, dkk., 2019). Flavonoid memiliki beberapa senyawa turunan, salah satunya adalah antosianin yang terdiri gugus gula (glikon) dan gugus non gula yaitu antosianidin (aglikon)

(Santoni, dkk., 2013). Antosianin adalah kelompok terbesar pigmen alami pada tumbuhan dan berperan besar sebagai pemberi warna alami pada daun, bunga, dan buah.

Salah satu metode untuk menentukan kadar antioksidan adalah menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang bertindak sebagai radikal bebas. Pada tahun 1992, Goldschmidt dan Renn menemukan dan mensintesis senyawa DPPH. DPPH kemudian digunakan untuk menentukan kadar aktivitas antioksidan berbagai senyawa alami seperti vitamin, obat, dan ekstrak tumbuhan, serta senyawa amina dan fenol. Penentuan kadar antioksidan menggunakan metode DPPH memiliki beberapa keunggulan, seperti sedikit reagen yang dibutuhkan, proses yang cepat dan sederhana. (Karadag, dkk., 2009).

Gugus kromofor dan auksokrom pada radikal bebas DPPH menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm dan berwarna ungu. Ketika elektron radikal pada DPPH berikatan dengan hidrogen dari senyawa antioksidan, terjadi perubahan warna DPPH yang semula ungu menjadi kuning. Senyawa DPPH kemudian berubah menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Andriani & Murtisiwi, 2020). Reaksi antara antioksidan dengan DPPH ditunjukkan pada gambar 2.2.



**Gambar 2.2** Reaksi antioksidan dengan DPPH

Besarnya nilai kadar antioksidan senyawa yang diuji diukur menggunakan parameter *Efficiency Concentration* ( $EC_{50}$ ). Nilai  $EC_{50}$  menunjukkan konsentrasi ekstrak sampel yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% melalui persamaan regresi. Penentuan menggunakan regresi nonlinear dengan X sebagai konsentrasi larutan sampel dan Y sebagai nilai % aktivitas antioksidan. Sampel uji dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi apabila nilai  $EC_{50}$  semakin kecil (Djuwarno, dkk., 2021). Penelitian Fasya, dkk., (2020) melakukan uji aktivitas antioksidan isolat steroid H. *verticillata*. Hasil pengukuran aktivitas kadar antioksidan dengan variasi konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm menunjukkan nilai peningkatan dengan nilai masing-masing sebesar 3,59; 5,009; 17,05; 27,6; dan 50,154 persen. Peningkatan persen aktivitas antioksidan searah dengan peningkatan isolat steroid H. *verticillata*.

Kandungan antioksidan pada H. *verticillata* yang bermanfaat sebagai obat sesuai dengan yang dijelaskan dalam Al-Qur'an pada surat An-nahl 69:

ثُمَّ كُلِّي مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ بَطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ

يَتَفَكَّرُونَ

Yang artinya: *Kemudian, makanlah (wahai lebah) dari segala (macam) buah-buahan lalu tempuhlah jalan-jalan Tuhanmu yang telah dimudahkan (bagimu).” Dari perutnya itu keluar minuman (madu) yang beraneka warnanya. Di dalamnya terdapat obat bagi manusia. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berpikir.*

Menurut tafsir Ibnu Katsir, Allah Swt. mengilhamkan kepada lebah untuk makan dari berbagai buah-buahan dan bunga-bunga. Kemudian dari mulut lebah keluar minuman yaitu madu yang di dalamnya terdapat kesembuhan bagi manusia dari berbagai penyakit (Ibnu Katsir, 2005).

Dari ayat ini, Allah Swt. telah menciptakan obat yang berupa madu dari perut lebah, namun tidak semua obat hanya terdapat dalam bentuk madu saja melainkan dapat ditemukan dari sumber lain yang beragam seperti tanaman. *H. verticillata* merupakan tanaman yang memiliki kandungan antioksidan yang memiliki manfaat sebagai obat.

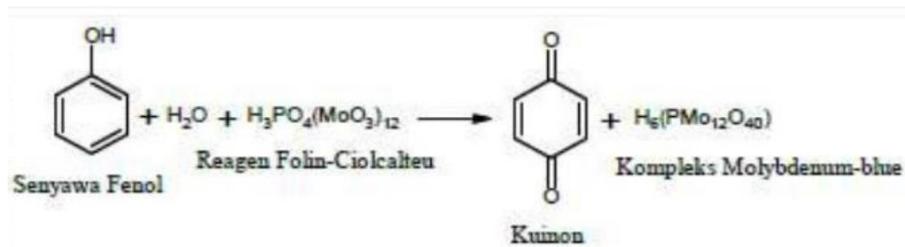
## 2.5 Uji Total Fenolik

Fenol merupakan senyawa organik yang memiliki gugus hidroksil yang terikat langsung pada cincin aromatik seperti benzena. Fenol paling banyak terdiri dari bentuk glikosida, yaitu gula dan alkohol yang saling berikatan membentuk kombinasi. Ikatan glikosida akan terbentuk ketika gugus hidroksil alkohol teradisi ke dalam gugus karbonil dari gula. Dalam beberapa tanaman juga dapat ditemukan kandungan senyawa fenol dalam berbagai bentuk, seperti flavonoid, fenolat, isoflavon, dan kuersetin. Fenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil, dimana dapat menyumbangkan atom hidrogen untuk mentralkan radikal bebas. Selain itu, fenol memiliki manfaat lain sebagai antiviral, antibiotik dan antitumor (Naviri, 2015).

Uji kadar total fenolik dilakukan dengan menggunakan metode *Follin-Ciocalteu*. Reagen *Follin-Ciocalteu* merupakan larutan kompleks yang terdiri dari asam heteropolifosfatungstat dan asam fosmolibdat. Asam-asam ini tersusun dari natrium molibdat, natrium tungstat, air, bromin, litium sulfat, asam klorida, dan asam fosfat. Ketika senyawa fenolik yang akan diuji bereaksi dengan oksidator fosfomolibdat, terbentuk kompleks molibednum-tungsten dan senyawa fenolat yang berwarna biru. Molibednum (VI) yang terdapat pada kompleks mengalami penurunan anion fenolat menyebabkan perubahan warna dari kuning menjadi biru. Semakin pekat warna biru yang dihasilkan menunjukkan semakin tinggi kandungan senyawa fenol dalam sampel (Sugiat, 2010).

Terdapat beberapa langkah dalam pengujian kadar total fenol menggunakan metode *Follin-Ciocalteu*, yaitu penentuan panjang gelombang maksimum standar dari asam galat, pembuatan kurva kalibrasi standar asam galat, dan pengukuran panjang gelombang sampel. Absorbansi yang diperoleh dari kurva kalibrasi standar asam galat digunakan sebagai

standar pengukuran karena memiliki gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi pada masing-masing cincin benzena, sehingga akan membentuk senyawa yang lebih kompleks ketika bereaksi dengan reagen *Follin-Ciocalteu*. Selain itu asam galat merupakan salah satu penyusun dari senyawa fenolik (Adawiah, dkk., 2015). Penelitian Nuzula, (2024) menguji kadar total fenol ekstrak etanol *H. verticillata* hasil variasi rasio sampel:katalis hidrolisis. Hasil terbaik ditunjukkan pada variasi rasio 1:2 untuk fraksi etil asetat dengan nilai  $28,86 \pm 3$  mg GAE/g dan petroleum eter dengan nilai  $31,16 \pm 0,3$  mg GAE/g. Fraksi air menunjukkan nilai terbaik pada variasi rasio 1:6 sebesar  $14,47 \pm 0,38$  mg GAE/g. Reaksi antara senyawa fenol dengan reagen *Follin-Ciocalteu* ditunjukkan pada gambar 2.3.



**Gambar 2.3** Reaksi senyawa fenol dengan reagen *Follin-Ciocalteu*

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2024-September 2024 di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Instrumentasi 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 adalah seperangkat alat gelas, galon plastik, oven, spatula, Ohaus MB120 *Moisture Analyzer*, sonikator BRANSON 3510, *rotary vacuum evaporator* dan spektrofotometer UV-Vis.

#### 3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan hidup hydrilla yang diambil dari Danau Ranu Grati Pasuruan, padatan Pb ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  anhidrat, akuademin, etanol *food grade*, etanol p.a, DPPH, asam galat, Reagen *Follin-Ciocalteu*, dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh elisitasi logam Pb terhadap kadar aktivitas antioksidan dari *H. verticillata* menggunakan metode sonikasi. Data kadar aktivitas antioksidan yang diperoleh kemudian dianalisa untuk kemudian menentukan konsentrasi optimal logam Pb terhadap peningkatan kadar aktivitas antioksidan. *H. verticillata* diambil dari danau Ranu Grati Pasuruan kemudian dicuci. *H. verticillata* yang sudah bersih kemudian diaklimatisasi selama 14 hari dengan penggantian air setiap 2 hari sekali. Variasi konsentrasi logam Pb yang digunakan adalah 0, 30, 35, 40, 45, dan 50 ppm dengan lama pemaparan selama 7 hari. Biomassa kemudian dikeringkan dan diserbukkan sampai ukuran kurang lebih 100 mesh. Serbuk *H. verticillata* yang diperoleh selanjutnya diekstrak menggunakan sonikator. Ekstrak yang diperoleh di saring dengan corong *buchner* dan filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak pekat kemudian diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Ekstrak pekat dengan kadar aktivitas antioksidan paling baik kemudian diuji kadar total fenolik.

### 3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu:

1. Pengambilan sampel *H. verticillata*.
2. Preparasi larutan stok logam Pb.
3. Aklimatisasi sampel tumbuhan dan kontrol.
4. Pemaparan sampel tumbuhan dengan larutan logam Pb.
5. Pengeringan sampel tumbuhan.
6. Ekstraksi sonikasi sampel tumbuhan dengan pelarut etanol.
7. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH.
8. Uji aktivitas antioksidan sampel *H. verticillata* menggunakan metode DPPH.
9. Uji kadar total fenol sampel *H. verticillata*.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Pengambilan Sampel *Hydrilla verticillata*

Sampel *H. verticillata* diambil dari Danau Ranu Grati Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Diambil tumbuhan *H. verticillata* berwarna hijau dengan ukuran 1-2 cm sebanyak 14 kg pada bagian yang terlihat pada permukaan air. Diperlukan alat seperti gunting, wadah plastik, dan perahu untuk mengumpulkan *H. verticillata*. *H. verticillata* kemudian dibilas dengan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada bagian tanaman. *H. verticillata* dimasukkan ke dalam wadah plastik dan diberi sedikit air untuk mencegah *H. verticillata* menjadi layu saat perjalanan.

#### 3.5.2 Aklimatisasi Sampel *Hydrilla verticillata* dan Kontrol

Aklimatisasi bertujuan untuk membantu adaptasi tumbuhan terhadap lingkungan baru. Aklimatisasi dilakukan dengan memasukkan 250 g tumbuhan *H. verticillata* ke dalam galon plastik yang berisi air sebanyak kurang lebih 12,5 liter dan dibiarkan selama 14 hari. Untuk menjaga kebersihan, air perlu diganti setiap 2 hari sekali.

#### 3.5.3 Preparasi Larutan Stok Logam Pb

Larutan stok timbal (Pb) 1000 ppm dibuat dengan cara melarutkan 1,5985 g Timbal (II) nitrat ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ ) dalam 1 liter akuademin. Dari larutan stok tersebut dibuat larutan besi dengan konsentrasi 0, 30, 35, 40, 45, dan 50 ppm masing-masing sebanyak 7,5 liter.

#### 3.5.4 Pemaparan Sampel *Hydrilla verticillata* dengan Larutan Logam Pb

*H. verticillata* ditimbang dengan berat masing-masing tumbuhan sebesar 250 g. Setiap tumbuhan diletakkan dalam satu galon plastik tanpa diberi media tanam. Diperlukan sebanyak 18 buah galon plastik yang terdiri dari 3 galon control berisi *H. verticillata* dan

akademis, sedangkan 15 wadah lainnya berisi *H. verticillata* dan larutan logam dengan konsentrasi 30, 35, 40, 45, dan 50 ppm dengan tiga kali pengulangan. Setelah dilakukan pemaparan selama tujuh hari, biomassa kemudian diambil.

### 3.5.5 Pengeringan Sampel *Hydrilla verticillata*

Biomassa yang diperoleh setelah pemaparan dikeringkan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50-55 °C selama dua hari. Biomassa kering yang diperoleh kemudian diukur kadar airnya menggunakan alat Ohaus MB120 *Moisture Analyzer* dengan kadar air yang diperoleh harus dibawah 10%. Jika kadar air masih di atas 10%, maka pengeringan dilanjutkan. Biomassa kering kemudian dihaluskan menggunakan blender dan dikemas sesuai dengan variasi konsentrasi.

### 3.5.6 Ekstraksi Sonikasi Sampel *Hydrilla verticillata* dengan Pelarut Etanol

Serbuk hydrilla ditimbang sebanyak 5 g diletakkan pada botol susu. Ditambahkan pelarut etanol *food grade* sebanyak 50 mL. Larutan serbuk hydrilla diekstraksi menggunakan sonikator selama 30 menit. Hasil ekstraksi disaring menggunakan corong *buchner* dan diperoleh filtrat hasil ekstraksi. Residu yang diperoleh diekstraksi kembali hingga tiga kali pengulangan. Filtrat ekstrak hydrilla yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.1:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstraksi kasar yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang digunakan}} \times 100\% \quad (3.1)$$

### 3.5.7 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Dipipet larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan etanol p.a sebanyak 3 mL. larutan divortex selama 90 detik. Selanjutnya larutan diukur panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### 3.5.8 Uji Aktivitas Antioksidan Sampel *Hydrilla verticillata* Menggunakan Metode DPPH

Masing-masing ekstrak sampel ekstrak kasar dengan variasi konsentrasi dilarutkan dalam pelarut etanol p.a 1000 ppm. Dari 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi setengah konsentrasinya (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625, 7,8125; dan 3,90625 ppm). Ekstrak masing-masing konsentrasi dipipet 3 mL dan ditambahkan 1 mL DPPH 0,2 mM. Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Masing-masing larutan divortex selama 90 detik kemudian diinkubasi dengan suhu 47 °C selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda_{\text{max}}$  yang telah diperoleh. Data absorbansi yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidan dengan persamaan 3.2:

$$\% \text{ aktivitas antioksidan } \left( \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi DPPH sisa}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\% \quad (3.2)$$

Kontrol yang digunakan yaitu larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL dalam 3 mL etanol p.a. Nilai  $EC_{50}$  juga dihitung dengan persamaan  $y = ax + b$  yang diperoleh dari kurva regresi linear dari hubungan persen aktivitas antioksidan dan konsentrasi ekstrak fraksi antioksidan.  $EC_{50}$  dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi  $EC_{50}$ .

### 3.5.9 Uji Kadar Total Fenolik Sampel *Hydrilla verticillata*

#### 3.5.9.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Asam galat dengan konsentrasi 30 ppm dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan 2,5 mL reagen *Follin-Ciocalteau* dan 2 mL  $Na_2CO_3$  7%. Campuran divortex selama 90 detik kemudian didiamkan selama 45 menit. Panjang gelombang larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

#### 3.5.9.2 Pembuatan Kurva Standar

Masing-masing variasi konsentrasi asam galat (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 dan 50 ppm) dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan 2,5 mL reagen *Follin-Ciocalteau* dan 2 mL  $Na_2CO_3$  7%. Campuran divortex selama 90 detik kemudian didiamkan selama 45 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh.

#### 3.5.9.3 Penetapan Kadar Total Fenol Ekstrak *Hydrilla verticillata*

10 mg ekstrak *H. verticillata* hasil antioksidan terbaik dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditandabatkan dengan etanol p.a. Larutan dipipet sebanyak 0,5 mL kemudian ditambahkan 2,5 mL reagen *Follin-Ciocalteau* dan 2 mL  $Na_2CO_3$  7%. Larutan divortex selama 90 detik kemudian didiamkan selama 45 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan tiga kali pengulangan. Kadar total fenol ekstrak *H. verticillata* dihitung menggunakan persamaan 3.3:

$$TPC = \frac{CxVxfP}{g} \quad (3.3)$$

#### Keterangan:

- TPC : Total Phenolic Content  
 C : Konsentrasi Fenol (Nilai X)  
 V : Volume Ekstrak yang Digunakan (mL)  
 fP : Faktor Pengenceran  
 g : Berat Sampel yang Digunakan (g)

**BAB IV**  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**4.1 Pengambilan Sampel Hydrilla**

Pengambilan sampel tumbuhan *H. verticillata* dilakukan menggunakan teknik *pursosive sampling* di perairan Danau Ranu Grati, Pasuruan. Pengambilan sampel dipilih dengan pertimbangan tertentu secara subjektif oleh peneliti (Lenaini, 2021). Pengambilan sampel dilakukan pada lokasi lokasi yang sudah ditentukan berdasarkan parameter yaitu pertumbuhan *H. verticillata* yang melimpah dengan kondisi kondisi hijau segar, tumbuh di permukaan air dengan jarak  $\pm 2$  meter, dan seluruh bagian tumbuhan masih baik. Seleksi bertujuan untuk memperoleh sampel *H. verticillata* dengan kondisi yang optimal dan siap untuk dianalisis sehingga mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder secara maksimal. Pengambilan sampel menggunakan bantuan perahu kecil. Sampel yang diperoleh kemudian dibersihkan dari kotoran dan tanah yang menempel dan dikemas dalam plastik besar.

**4.2 Aklimatisasi**

Proses aklimatisasi merupakan proses adaptasi tumbuhan yang bertujuan untuk menyesuaikan fisiologis (adaptasi) tumbuhan *H. verticillata* yang berasal dari habitatnya terhadap lingkungan baru di laboratorium untuk berikutnya digunakan untuk proses penelitian (Latif, 2020). Proses aklimatisasi ditandai dengan adanya aklimasi (perubahan fisiologis) dan adaptasi (kemampuan untuk menyesuaikan diri) terhadap lingkungan baru (Sudartini, 2020). Pengamatan fisiologis *H. verticillata* dilakukan selama proses aklimatisasi untuk mengetahui perubahan fisik tumbuhan setelah proses aklimatisasi. Perubahan fisik tumbuhan *H. verticillata* dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Perubahan fisiologis *H. verticillata* setelah aklimatisasi

<b>Perubahan Fisiologis <i>H. verticillata</i> Setelah Aklimatisasi</b>		
<b>Akar</b>	<b>Batang</b>	<b>Daun</b>
- Muncul akar baru pada bagian dasar batang	- Muncul tunas baru pada bagian ruas dan pucuk - Adanya penambahan panjang batang - Adanya daun segar pada bagian yang baru tumbuh - Terjadi pembusukan pada bagian yang rusak	- Pada bagian yang baru tumbuh mengalami penyegaran dengan warna daun cerah - Terjadi kerontokan pada bagian yang membusuk

Parameter keberhasilan aklimatisasi dapat dilihat dari penambahan ukuran batang, daun, tunas, dan akar pada tumbuhan tersebut (Rachmawati, 2022). Hasil aklimatisasi *H.*

*verticillata* dapat dikatakan berhasil karena adanya tunas baru pada batang, daun yang semakin banyak dan segar, batang yang semakin panjang, dan tumbuhnya akar baru, namun terdapat beberapa tumbuhan *H. verticillata* yang mengalami kematian seperti gugurnya daun dan batang yang membusuk. Kondisi fisiologis *H. verticillata* setelah aklimatisasi ditunjukkan pada gambar 4.1.



**Gambar 4.1** Kondisi fisiologis *H. verticillata* setelah aklimatisasi

Pada lampiran 4.1 diperoleh rata-rata berat biomassa basah *H. verticillata* mengalami penurunan massa dari yang semula 250 gram menjadi sekitar 225,104 gram atau penurunan sekitar 9,958%. Penurunan massa ini disebabkan karena respon fisiologis dan adaptasi *H. verticillata* yang semula hidup di perairan danau berubah menjadi perairan dari air keran. Selain itu, pada saat proses pengambilan sampel dan aklimatisasi terjadi gesekan yang dapat menyebabkan luka pada tumbuhan dan menyebabkan bagian jaringan tersebut mengalami kerusakan (nekrosis), seperti patahnya batang dan rontoknya daun. Lingkungan yang baru juga memiliki suhu dan intensitas cahaya yang berbeda sehingga mempengaruhi pertumbuhannya (Oktavia, 2020).

#### **4.3 Elisitasi Logam Berat Timbal (Pb) Terhadap *Hydrilla verticillata***

Elisitasi merupakan salah satu strategi yang dilakukan untuk meningkatkan stres oksidatif pada tumbuhan sehingga menyebabkan adanya perubahan fisiologis dan menciptakan respon pertahanan pada tumbuhan. Elisitasi dilakukan dengan menambahkan zat elisitor yang mampu memicu respon pertahanan tumbuhan sehingga terjadi peningkatan produksi senyawa metabolit primer atau sekunder (Dena, 2021). Pada penelitian ini, elisitasi dilakukan menggunakan elisitor logam berat Pb dengan variasi konsentrasi 0, 30, 35, 40, 45,

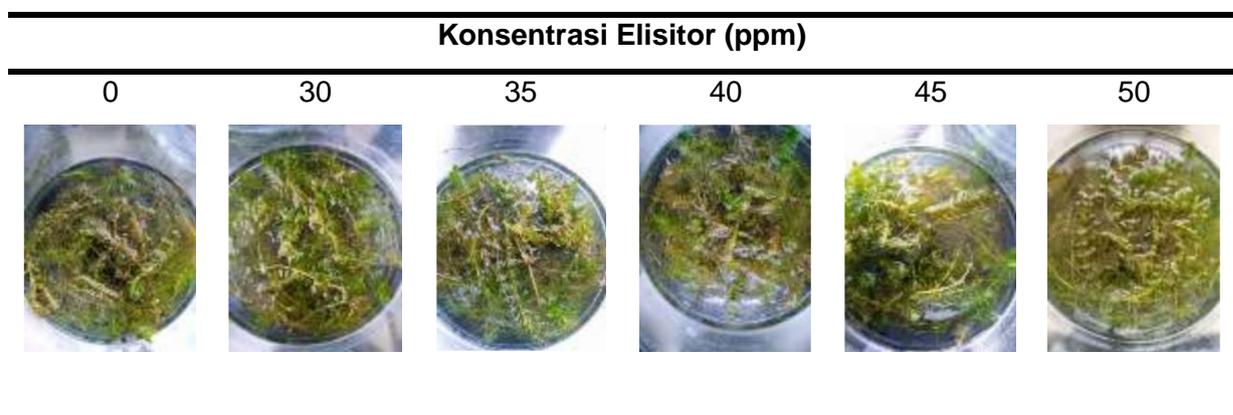
dan 50 ppm dan waktu pemaparan selama 7 hari. Elisitasi dilakukan untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder pada tumbuhan *H. verticillata*. Berdasarkan perlakuan yang telah dilakukan, pengaruh dari elisitasi terhadap *H. verticillata* dapat diamati secara fisiologis seperti perubahan fisik pada daun dan batang serta perubahan berat biomassa. Hasil pengamatan dan penjelasan fisiologis pengaruh elisitasi logam Pb terhadap *H. verticillata* dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2** Pengamatan kondisi fisiologis *H. verticillata* selama proses elisitasi

Konsentrasi elisitor (ppm)	Waktu Pemaparan (hari)	Penampakan Fisik (warna)	
		Daun	Batang
0	7	Hijau	Hijau Cerah
30	7	Hijau	Hijau Cerah
35	7	Hijau	Hijau Pucat
40	7	Hijau	Hijau Pucat
45	7	Hijau Kekuningan	Hijau Muda Kekuningan
50	7	Hijau Kekuningan	Hijau Muda Kekuningan

Hasil pengamatan menunjukkan adanya perubahan fisik berupa warna pada daun dan batang. Perubahan warna tidak terlalu signifikan pada konsentrasi 0 dan 30 ppm, namun terjadi perubahan warna menjadi lebih cerah pada konsentrasi 35 dan 40 ppm. Perubahan warna mulai terjadi pada hari kelima pemaparan. Perubahan warna ini menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan pada *H. verticillata* akibat paparan elisitor. Pada konsentrasi 45 dan 50 ppm terjadi perubahan warna dari hijau menjadi kekuningan yang mulai terjadi pada hari kelima pemaparan. Hal ini disebabkan karena penurunan kadar klorofil akibat kadar elisitor yang melebihi batas ambang. Paparan elisitor menyebabkan degradasi pigmen klorofil akibat meningkatnya aktivitas biosintesis metabolit sekunder hingga batas optimum tanaman untuk melindungi diri dari elisitor. Perbandingan warna variasi konsentrasi elisitor dapat dilihat pada tabel 4.3.

**Tabel 4.3** Perbandingan warna variasi konsentrasi elisitor



Hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbandingan terbalik antara berat biomassa basah *H. verticillata* dengan konsentrasi elisitor logam Pb. Semakin tinggi konsentrasi elisitor yang dipaparkan menyebabkan semakin rendah berat biomassa basah *H. verticillata*. Hasil perhitungan perubahan berat biomassa *H. verticillata* dapat dilihat pada lampiran 4.1. Penurunan berat biomassa ini disebabkan karena adanya elisitor yang memicu tumbuhan untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder dan menurunkan aktivitas metabolisme primer. Aktivitas ini akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi elisitor. Putriarti, dkk. (2021) menyatakan bahwa pemberian elisitor pada *H. verticillata* mengakibatkan tumbuhan mengalami klorosis, ditandai dengan adanya perubahan warna pada daun dan batang. Ketika elisitor yang diberikan melebihi titik kejenuhan *H. verticillata* maka penyerapan unsur hara dan pertumbuhan akan terganggu sehingga metabolisme tumbuhan juga ikut terganggu. Perubahan morfologi pada *H. verticillata* merupakan adaptasi terhadap paparan elisitor.

#### 4.4 Preparasi Biomassa *Hydrilla verticillata*

Pada penelitian ini, perbedaan hasil rendemen serbuk biomassa *H. verticillata* tidak terjadi secara signifikan, namun rendemen terendah terjadi pada konsentrasi 40 ppm, yaitu 3,59%. Terdapat beberapa kemungkinan penyebab menurunnya rendemen serbuk biomassa yaitu terjadinya penyerapan dan akumulasi logam Pb yang sangat tinggi sehingga menyebabkan kerusakan pada jaringan tumbuhan. Pada konsentrasi 40 ppm dimungkinkan terjadi penyerapan logam Pb yang optimal sehingga menurunkan aktivitas metabolisme primer pada tumbuhan *H. verticillata* dan meningkatkan aktivitas metabolisme sekunder untuk merespon adanya elisitor. Akibatnya terjadi penurunan persen rendemen biomassa yang diperoleh (Eddijanto, dkk., 2022).

**Tabel 4.4** Rata-rata rendemen serbuk hasil elisitasi

Konsentrasi Elisitor (ppm)	Rata-Rata (%)
0	4,06
30	4,05
35	4,05
40	3,59
45	4,20
50	4,43

Berdasarkan hasil menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi elisitor tidak dapat terlihat berdasarkan parameter rendemen serbuk biomasanya. Adanya perolehan rendemen serbuk yang tidak konsisten dapat diakibatkan karena proses pengeringan dan penyerbukan yang tidak optimal. Semakin tinggi konsentrasi elisitor, seharusnya menyebabkan penurunan

terhadap perolehan rendemen serbuk biomaasanya akibat penurunan kadar air karena adanya hambatan oleh logam berat.

Hasil pada tabel 4.4 menunjukkan terjadinya peningkatan rata-rata rendemen serbuk pada konsentrasi 45 dan 50 ppm. Pada konsentrasi tersebut logam Pb yang terserap dalam *H. verticillata* melebihi kemampuan sehingga terakumulasi dan meningkatkan beratnya. Pada konsentrasi 0-40 ppm tidak terjadi perubahan signifikan terhadap persen rata-rata rendemen serbuk. Peningkatan konsentrasi elisitor menurunkan biomassa *H. verticillata* dan meningkatkan rendemen serbuk akibat akumulasi logam Pb.

Selanjutnya pada penelitian ini dilakukan pencatatan kadar air pada serbuk *H. verticillata* hasil elisitasi. Fungsi dari pencatatan persen kadar air pada serbuk biomassa *H. verticillata* adalah sebagai parameter ketahanan masa penyimpanan sampel yang akan berpengaruh pada hasil ekstraksi. Persen kadar air pada serbuk biomassa yang diperbolehkan adalah di bawah 10%. Hal ini bertujuan untuk menjaga serbuk agar lebih tahan lama dan lebih aman dari kerusakan akibat jamur. Selain itu, kadar air di bawah 10% juga memudahkan dalam proses ekstraksi sehingga rendemen ekstrak yang akan diperoleh bisa lebih optimal (Sinaga, 2021). Hasil rata-rata persen kadar air ditunjukkan pada tabel 4.5.

**Tabel 4.5** Rata-rata persen kadar air serbuk hasil elisitasi

Konsentrasi elisitor (ppm)	Rata-rata (%)
0	7,74
30	7,93
35	6,45
40	7,05
45	6,27
50	7,13

#### 4.5 UAE (Ultrasonic Assisted Extraction) Terhadap Biomassa *Hydrilla verticillata*

Dari penelitian ini diperoleh data hasil ekstrak kasar *H. verticillata* dengan nilai berat dan rendemen yang dapat dilihat pada lampiran 4.6.

**Tabel 4.6** Hasil persen rata-rata rendemen ekstrak sampel

Konsentrasi elisitor (ppm)	Rata-Rata Rendemen Ekstrak (%)		Rata-Rata (%)
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	
0	2,32	2,14	2,23
30	4,28	4,10	4,19
35	2,32	2,69	2,51
40	4,76	5,12	4,94
45	4,08	4,15	4,12
50	3,06	3,28	3,17

Penelitian menggunakan zat organik cenderung lebih sulit untuk mendapatkan hasil homogen dibandingkan dengan zat anorganik. Pada penelitian ini diperoleh hasil rendemen

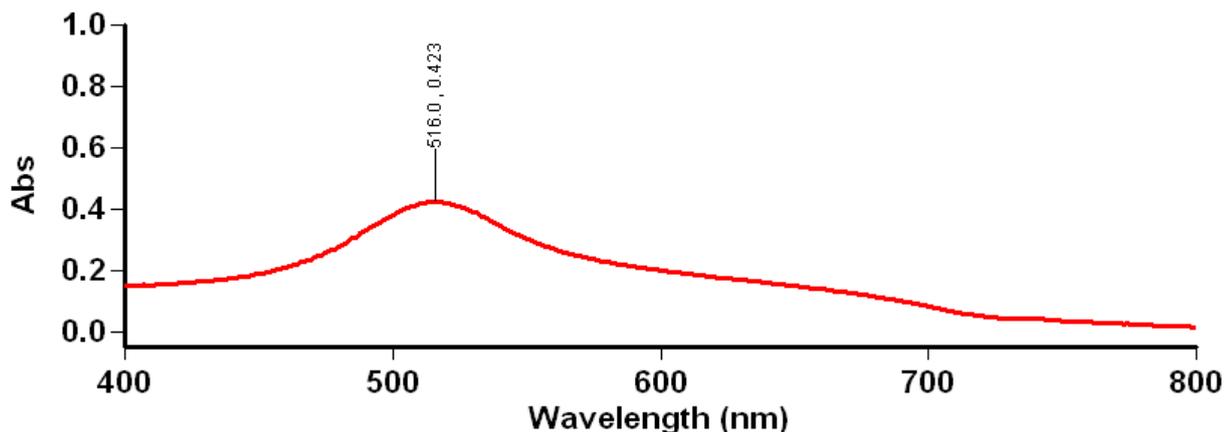
yang tidak homogen akibat keterbatasan alat yang digunakan sehingga sulit untuk melakukan ekstraksi seluruh sampel pada waktu yang bersamaan, namun perlakuan yang digunakan tetap mempertahankan homogenitas agar hasil yang diperoleh bisa homogen. Penyetaraan waktu dan suhu sonikasi serta perbandingan antara serbuk dan pelarut (1:10) untuk seluruh sampel bertujuan untuk mendapat hasil yang homogen, di mana perbedaan data yang diperoleh hanya diakibatkan oleh faktor perbedaan konsentrasi elisitor.

Rendemen yang diperoleh merupakan ekstrak kasar berupa senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh *H.verticillata*. Pada tabel 4.6 konsentrasi 0 ppm menghasilkan rendemen paling sedikit karena tidak mengalami elisitasi. Pada konsentrasi 30 ppm mulai terjadi peningkatan rendemen ekstrak, menandakan elisitasi mampu meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder *H. verticillata*. Peningkatan terjadi sampai konsentrasi 40 ppm kemudian menurun pada konsentrasi 45 dan 50 ppm. Pada konsentrasi 35 ppm terjadi penurunan rendemen ekstrak. Seharusnya tidak terjadi penurunan karena seiring peningkatan konsentrasi elisitor maka rendemen ekstrak yang diperoleh akan meningkat. Hasil ini menunjukkan bahwa elisitasi mampu meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder. Peningkatan optimal terjadi pada konsentrasi 40 ppm, menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi elisitor logam Pb melebihi 40 ppm tidak meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder.

#### 4.6 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

##### 4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Hasil spektrum UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM dapat dilihat pada gambar 4.2.



**Gambar 4.2** Panjang gelombang DPPH 0,2 mM

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang dari DPPH yang memiliki panjang gelombang maksimum pada spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran antioksidan sampel harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar hasil absorbansi memiliki tingkat kepekaan tertinggi sehingga meminimalisir kesalahan saat analisis. Berdasarkan gambar 4.2 diperoleh panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,2 mM sebesar 516 nm.

#### 4.6.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Sampel *Hydrilla verticillata*

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak masing-masing konsentrasi elisitor (0, 30, 35, 40, 45, dan 50 ppm). Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH yang sudah ditentukan sebelumnya, yaitu 516 nm. Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan larutan kontrol berupa 0,2 mM DPPH. Larutan DPPH yang digunakan merupakan larutan yang masih baru untuk menghindari adanya perubahan nilai yang signifikan pada saat pengujian.

Data hasil pengujian berupa absorbansi kontrol dan absorbansi ekstrak yang kemudian digunakan untuk menentukan persen aktivitas antioksidan. Nilai persen aktivitas antioksidan menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Persen aktivitas antioksidan menyatakan jumlah atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang mengikat radikal DPPH dan mereduksinya menjadi DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Andriani & Murtisiwi, 2020).

Hasil dari data nilai persen aktivitas antioksidan dapat digunakan untuk menentukan nilai  $EC_{50}$ . Data nilai absorbansi dari ekstrak masing-masing variasi konsentrasi elisitor logam Pb dapat dilihat pada lampiran 4.7. Data nilai  $EC_{50}$  dapat dilihat pada tabel 4.7.

**Tabel 4.7** Nilai  $EC_{50}$  ekstrak *H. verticillata* hasil elisitasi

Konsentrasi (ppm)	$EC_{50}$ (ppm)			Kategori
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Rata-rata	
0	1282,05	1101,629	1191,84	Sangat Lemah
30	250,168	308,922	279,545	Sangat Lemah
35	190,709	150,433	170,571	Lemah
40	119,034	119,912	119,473	Sedang
45	443,219	426,689	434,954	Sangat Lemah
50	685,166	651,606	668,386	Sangat Lemah

Nilai  $EC_{50}$  menunjukkan potensi aktivitas antioksidan dari suatu senyawa. Semakin besar nilai  $EC_{50}$  yang diperoleh, maka semakin kecil potensi aktivitas antioksidannya. Berdasarkan tabel 4.7 ekstrak konsentrasi 50 ppm memiliki nilai rata-rata  $EC_{50}$  paling tinggi. Hal ini menunjukkan peningkatan konsentrasi elisitor sudah melebihi batas sehingga sel-sel dalam *H. verticillata* sudah mengalami kematian. Akibatnya terjadi penurunan kadar aktivitas

antioksidan. Sedangkan nilai  $EC_{50}$  paling rendah ditunjukkan pada konsentrasi elisitor 40 ppm. Konsentrasi 40 ppm merupakan konsentrasi optimal elisitor dalam meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder dalam *H. verticillata*. Pada konsentrasi 0-40 ppm terjadi penurunan nilai  $EC_{50}$ , menunjukkan bahwa pemberian elisitor terbukti mampu meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder dalam *H. verticillata*. Peningkatan kadar aktivitas antioksidan terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi elisitor. Adanya penurunan persen aktivitas antioksidan pada konsentrasi elisitor 45 ppm menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut merupakan batas maksimal konsentrasi elisitor logam Pb. Peningkatan persen aktivitas antioksidan paling optimal pada konsentrasi 40 ppm.

Nilai  $EC_{50}$  dan persen rendemen ekstrak yang diperoleh menunjukkan kesesuaian. Masing-masing menunjukkan bahwa terjadi peningkatan dari 0 sampai 40 ppm dan terjadi penurunan pada 45 sampai 50 ppm. Hasil penelitian menunjukkan persen aktivitas antioksidan tertinggi yang diperoleh masih tergolong lemah. Hal ini disebabkan karena pengujian masih menggunakan ekstrak kasar tanpa adanya pemisahan untuk memperoleh isolat murni.

Al-Quran merupakan kitab suci yang diturunkan Allah Swt. kepada Nabi Muhammad saw. sebagai petunjuk dan pedoman hidup bagi umat manusia. Al-Quran menjelaskan banyak anjuran yang mengajak manusia untuk menghayati alam semesta dan segala isinya. Salah satu anugerah dari Allah Swt. bagi umat manusia adalah tumbuhan yang beragam. Manusia dapat memanfaatkan berbagai tumbuhan yang ada untuk memenuhi kebutuhan hidup, seperti sandang, pangan, dan papan. Terdapat ayat dalam Al-Quran yang menjelaskan tentang tumbuhan, yaitu dalam Al-Quran surat Al-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا

Artinya: "Dialah yang menurunkan air dari langit lalu dengannya Kami menumbuhkan segala macam tumbuhan. Maka, darinya Kami mengeluarkan tanaman yang menghijau. Darinya Kami mengeluarkan butir yang bertumpuk (banyak)."

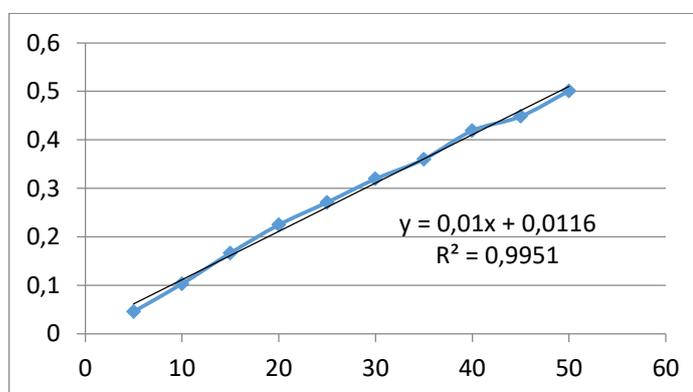
Menurut tafsir Ibnu Katsir, ayat ini menjelaskan bukti kekuasaan Allah Swt. dalam menciptakan dan mengatur makhluk-Nya. Allah menurunkan air dari langit untuk menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan. Dari tumbuhan tersebut kemudian mengeluarkan biji-bijian yang bertumpuk yang dapat dimanfaatkan oleh manusia (Ibnu Katsir, 2007).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah Swt. menurunkan air dari langit dan menumbuhkan segala macam tumbuhan. Dari tumbuhan tersebut kemudian mengeluarkan biji-bijian yang bertumpuk sehingga dapat dimanfaatkan bagi manusia. Salah satu dari aneka ragam tumbuhan yang ada adalah *H. verticillata*. *H. verticillata* memiliki beberapa manfaat

terutama sebagai obat karena kandungan antioksidan (Fasya, dkk., 2019). Kadar antioksidan dalam *H. verticillata* dapat ditingkatkan lagi dengan melakukan elisitasi menggunakan logam Pb. Pada penelitian ini terbukti bahwa dengan pemberian elisitor pada *H. verticillata* mampu meningkatkan kadar aktivitas antioksidan. Peningkatan terbaik terjadi pada konsentrasi elisitor 40 ppm dengan nilai  $EC_{50}$  sebesar 119,473 ppm.

#### 4.7 Uji Kadar Total Fenol

Pengujian kadar total fenol ekstrak kasar *H. verticillata* menggunakan metode *Follin-Ciocalteu*. Pertama dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum asam galat untuk membuat kurva standar asam galat. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum menunjukkan nilai sebesar 760 nm. Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum, dilakukan pembuatan kurva standar asam galat pada panjang gelombang tersebut. Kurva dibuat dengan variasi konsentrasi larutan standar agar dapat memperoleh persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk penetapan kadar total fenol dari sampel. Nilai X merupakan konsentrasi larutan dan nilai Y sebagai absorbansi dari larutan standar (Paramita, 2020). Variasi konsentrasi larutan standar yang digunakan yaitu 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, dan 50 ppm. Masing-masing konsentrasi kemudian diukur absorbansinya kemudian diperoleh persamaan regresinya. Hasil kurva kalibrasi asam galat dapat dilihat pada gambar 4.3.



**Gambar 4.3** Grafik kurva standar asam galat

Dari gambar 4.3 menunjukkan nilai persamaan regresi  $y = 0,01x + 0,0116$  dengan  $R^2 = 0,9951$ . Nilai  $R^2$  yang mendekati 1 menunjukkan adanya hubungan antara keduanya. Persamaan regresi yang diperoleh digunakan untuk menghitung kadar total fenol dengan rumus TPC.

Kadar total fenol diperoleh dari perhitungan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan regresi linear asam galat. Pada tabel 4.8 menunjukkan nilai TPC mengalami peningkatan hampir lima kali lipat. Hal ini menjelaskan bahwa elisitasi dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder terutama pada bagian fenol. Peningkatan ini juga sesuai dengan nilai

rendemen ekstrak dan nilai aktivitas antioksidan. Hasil perhitungan penetapan kadar total fenol ekstrak *H. verticillata* hasil elisitasi dapat dilihat pada tabel 4.8.

**Tabel 4.8** Hasil Penetapan Kadar Total Fenol Ekstrak *H. verticillata* hasil elisitasi

Konsentrasi	Absorbansi	ug/mL	mg/mL	TPC (mg GAE/g)	Rata-Rata (mg GAE/g)
0	0,1252	11,36	0,01136	11,36	11,68666667
	0,1196	10,8	0,0108	10,8	
	0,1406	12,9	0,0129	12,9	
40	0,5561	54,45	0,05445	54,45	51,34333333
	0,5225	51,09	0,05109	51,09	
	0,4965	48,49	0,04849	48,49	

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa adanya elisitasi terhadap *H. verticillata* meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder. Hasil uji kadar antioksidan menunjukkan adanya peningkatan kadar aktivitas antioksidan dengan nilai tertinggi pada konsentrasi 40 ppm dengan kategori lemah. Pada uji total fenol, adanya elisitasi juga terbukti meningkatkan kadar total fenol *H. verticillata*. Peningkatan terjadi dari konsentrasi 0 ke 40 ppm dengan nilai sebesar 11,6867 mg GAE/g dan 51,3433 mg GAE/g.

#### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan pemisahan lebih lanjut pada ekstrak kasar seperti menggunakan KLT untuk memperoleh isolat yang bersifat antioksidan seperti senyawa steroid. Selain itu, perlu dilakukan identifikasi senyawa menggunakan instrumentasi FTIR, LC-MS/MS dan H-NMR untuk mengetahui jenis senyawa yang diperoleh secara spesifik.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., & Büsselberg, D. 2019. Flavonoids in cancer and apoptosis. *Cancers*, 11(1).
- Adawiah, Sukandar, D., & Muawanah, A. (2015). Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *Jurnal Kimia VALENSI*, 1(2): 130-136. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3155>.
- Al-Mahalli, Jalaluddin & Jalaluddin As-Suyuthi. 1990. Tafsir Jalalain. Terj. Bahrun Abu Bakar, Jakarta: Sinar Baru Algensindo.
- Anaka, S. S., Deht, R., Sarker, D., Samanathan, S. K. M., Millas, C. P., & Burd, S. (2001). Analysis of Phytochelatin Complexation in the Lead Tolerant Vetiver Grass (*Vetiveria zizanioides* (L) Nash). *Environmental Pollutant*, 15(7): 2173-2183.
- Andriani, D. & Murtisiwi, L. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(1): 70-76.
- Asworo, R. Y. & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education (e-Journal)*. 3(2): 256-263.
- Aulia, Maghfirotul. 2020. Fitoremediasi Logam Berat Pb dan Fe Pada Limbah Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang menggunakan *Hydrilla verticillata* dari Danau Ranu Grati Pasuruan. Skripsi : UIN Malang.
- Basiru MP, 2015. Efektivitas Tumbuhan Ganggang (*Hydrilla verticillata*) dalam Menurunkan Kadar Fosfat (PO<sub>4</sub>) pada Air Limbah Laundry X.
- Beckmann, R. (1980), Lead Surpris e – in vi a the skin. *Ecos*, 60: 14-17.
- Departemen Agama RI. Tafsir Ibnu Katsir (Terjemah). Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i, 2007, jilid 3, hlm. 179–181.
- Dena, A., Restiani, R., & Adityarini, D. (2021). Peningkatan Produksi Saponin pada Kultur Kalus Ginseng Jawa (*Talanum paniculatum* Gaertn) dengan Penambahan Ekstrak Yeast. *Sciscitatio*, 2(1): 25-44.
- Djuwarno, E. N., Hiola, F., & Isa, I. (2021). Formulasi Sediaan Emulgel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) dan Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*. 1(1): 10-19.
- Dulay, E.B.C., 2010. Phytoremediation Of Cadmium Water By *Hydrilla verticillata*. *SLU Research Journal*, 41 (1): 23-33.
- Eddijanto, I., Restiani, R., & Adityarini D. (2022). Elisitasi Flavonoid Menggunakan Kitosan pada Kultur Kalus Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.). *Sciscitatio*, 3(2): 90-99.
- Estrada, K. R., Limon, H. V., Hidalgo, D., Moyano, E., Golenioswki, M., Cusidó, R. M., & Palazon, J. (2016). Elicitation, an Effective Strategy for the Biotechnological Production of Bioactive High-Added Value Compounds in Plnat Cell Factories. *Molecules*, 21: 1-24.

- Farobi, W. A. A. (2017). Fitoremediasi Oleh *Hydrilla verticillata* (L.f) Royle Danau Ranu Grati Pasuruan dengan Variasi Konsentrasi Logam Timbal (Pb). *Skripsi*. Malang:UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fasya, A. G., Baderos, A., Madjid, A. D. R., Amalia, S., & Megawati, D.S. (2019). Isolation, Identification and Bioactivity of Steroids Compounds from Red Algae *Euclima cottonii* Petroleum Ether Fraction. *AIP Conference Proceeding*, 2120: 030025-1-030025-7.
- Fasya, A. G., dkk. 2019. Aktivitas Antioksidan Isolat Steroid Hasil Kromatografi Lapis Tipis dari Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*. *Journal of Chemistry*. Vol 8 (1) 23-34.
- Fessenden, Fessenden. 1982. *Kimia Organik*. Jakarta : Erlangga.
- Fitria, M. W., Putri, W. D. R., & Maligan, J. M. (2018). Peran Kejut Listrik dan Temperatur Sebagai Elisitor dalam Meningkatkan Kandungan Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Pada Kedelai (*Glycine max*): Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 6(4).
- Garcia, J. & Castro, M. (2004). Ultrasound-Assisted Soxhlet Extraction: an Expeditive Approach for Solid Sample Treatment, Application to The Extraction of Total Fat from Oleaginous Seeds. *Journal Chromatography*. A1034: 237-242.
- Ginting, M., Marbun, N. R., Sinaga, M., Fitri, K., & Leny. (2023). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Gummy Candies dari Sari Ganggang *Hydrilla* (*Hydrilla verticillata* L.) yang Tumbuh di Perairan Danau Toba. *Majalah Farmasetika*, 8(1): 13-26. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v8i1.36649>.
- Gupta, M., & Chandra, P. (1994). Lead accumulation and toxicity in *vallisneria spiralis* (L.) and *hydrilla verticillata* (L.f.) royle. *Journal of Environmental Science and Health. Part A: Environmental Science and Engineering and Toxicology*, 29(3), 503-516. <https://doi.org/10.1080/10934529409376051>.
- Handoyono, D. L. Y. & Pranoto, M. E. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*. 1(2): 45-54.
- Hasanah, F. (2017). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan Petroleum Eter *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle dari Danau Ranu Grati Pasuruan Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hendayana, S. (2006). *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- Ibnu Katsir. (2005). *Tafsir Ibnu Katsir* (Terj. Muhammad Nasib Ar-Rifa'i), Jilid 4. Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Indrasti, N. S., Subroto, M.A., dan Gunawan, G.G. 2005. Adsorpsi Logam Berat Seng (Zn) dengan menggunakan Akar Rambut *Solanum Ningrum* L Galur A<sub>4</sub> Kering Terimobilisasi dalam Na-alginat. *Journal of Argoindustrial Technology*. 15(1): 1-9.
- January, M. C., Cutright, T. J., Keulen, H. V., & Wei, R. (2008). Hydroponic Phytoremediation of Cd, Cr, Ni, As, and Fe: Can *Helianthus annuus* Hyperaccumulate Multiple Heavy Metals? *Chemosphere*, 70: 531-537.
- Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2: 41-60.

- Knowlton, F. M., Boyle, P. T., & Jones, R. J. (1983).
- Langeland, K. A. (1996). *Hydrilla verticillata* (L.F.) Royle (Hydrocharitaceae), "The Perfect Aquatic Weed". *Castanea*, 61(3): 293-304.
- Lestario, N.L., Sugiarto, S., Timotius, K.H. 2008. Aktivitas antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria Verucosa*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana. Vol XIX No 2.*
- Marthana W. S. M., Soeprobowati, T. R., & Izzati, M. (2014). Bioakumulasi Timbal (Pb) oleh *Hydrilla verticillata* L.f. Royle di Danau Rawapening, Ambarawa Semarang. *Jurnal Sains dan Matematika*, 22(2): 52-59.
- Mason, T. J. (1990). *Sonochemistry: The Use of Ultrasonic in Chemistry*. Cambridge (UK): Royal Society of Chemistry.
- Muthusarayanan, S, dkk. 2018. Phytoremediation of Heavy Metals : Mechanisms, Methods, and Enhancements. *Environmental Chemistry Letters*.
- Naviri, T. (2015). 1001 Makanan Sehat. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Pal, D. K., & Nimse, S. B. (2006). Little Known Uses of Common Aquatic Plant, *Hydrilla verticillata* (Linn. f.) Royle. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 5(2): 108-111.
- Phukan, P., Phukan, R., & Phukan, S. N. (2016). Heavy Metal Uptake Capacity of *Hydrilla verticillata*. *International Research Journal of Environment Science*, 4(3): 35-40. <http://www.isca.in/IJENS/Archive/v4/i3/6.ISCA-IRJEvS-2015-017.pdf>.
- Pramita, D., Harlia, & Sayekti, E. (2013). Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Fraksi Etil Astatat Daun Kesium (*Polygonum minus* Huds). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2(3): 142-147.
- Pratiwi, Agus D. 2021. Pengaruh Dosis Rumput Air (*Hydrilla verticillata*) dan Legin Terhadap Pertumbuhan Serta Produksi Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill). Tesis: Pekanbaru.
- Pratiwi, L., Rachman, M. S., & Hidayati, D. N. (2016). Ekstraksi Minyak Atsiri dari Bunga Cengkeh dengan Pelarut Etanol dan N-Heksana. *The 3rd University Research Colloquium*, 655-661.
- Putriarti, D., Mudloifah, I., Rosyidah, N. F., & Putri, M. (2021). Kemampuan *Hydrilla verticillata* Sebagai Agen Fitoremediasi Linear Alkylbenzene Sulphonate (LAS) Detergen. *Prosiding SEMNAS BIO 2021 Universitas Negeri Padang*. 1025-1035.
- Rabiatul, Dharmono, & Riefani, M. K. (2020). Spesies Famili Hydrocharitaceae pada Habitat Rawa Bervegetasi Galam Kecamatan Bati-Bati Kalimantan Selatan. *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 12(1): 86-95.
- Ramesh, S., Rajan, R., dan Santhanam, R. 2014. *Freshwater Phytopharmaceutical Compound*. New York : CRC Press.
- Rengga, W. D. P., Prayoga, A. B., Asnafi, A., & Triwibowo, B. (2019). Ekstraksi Minyak Mikro-Algae *Skeletonema costatum* dengan Bantuan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Rekayasa Bahan Alam dan Energi Berkelanjutan*. 3(1): 1-5.
- Robins. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Vol. 1, Edisi 7. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.

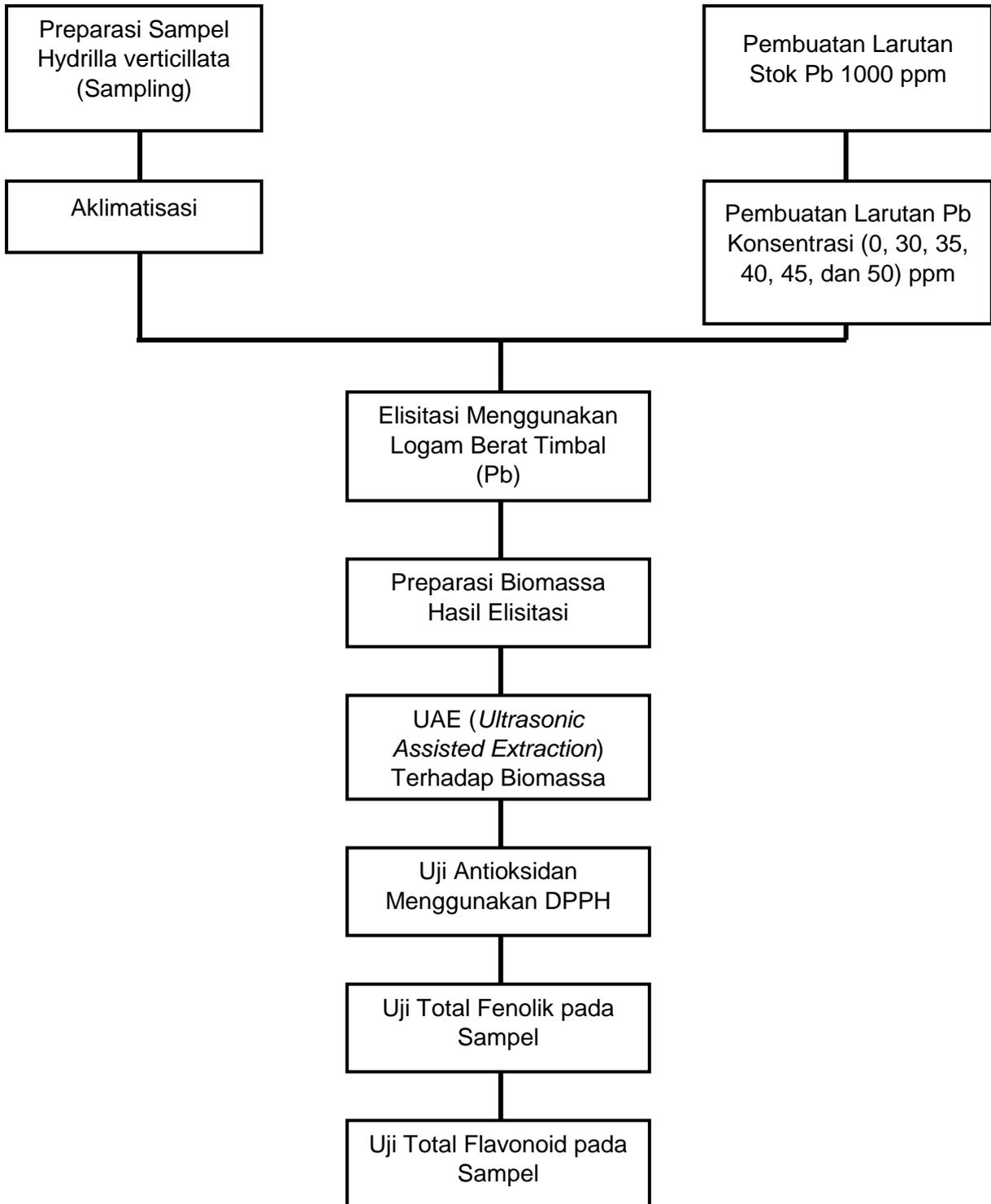
- Rohman, A. (2007). *Kimia farmasi analisis*. Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Santoni, A., Darwis, D., & Syahri, S. (2013). Isolasi Antosianin dari Buah Pucuk Merah (*syzygium campanulatum korth.*) Serta Pengujian Antioksidan dan Aplikasi sebagai Pewarna Alami. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*, 1(1), 1–10.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Sholihah, M. (2017). Aplikasi Gelombang Ultrasonik Untuk Meningkatkan Rendemen Ekstraksi dan Efektivitas Antioksidan Kulit Mangga. *Jurnal Keteknikhan Pertanian*, 5: 161-168.
- Shrivastava, M., & Srivastava, S. (2021). Application and research progress of *Hydrilla verticillata* in ecological restoration of water contaminated with metal and metalloids. *Environmental Challenges*, 4(April), 100177.. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2021.100177>.
- Sinaga, B., Sondak, E. S., & Ningsih, A. W. (2021). Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Kualitas Simplisia Daun Jambu Biji Merah (*Psidium guajava L.*). *Jurnal Jamu Kusuma*. 1(2): 67-75.
- Singh, D., Tiwari, A., & Gupta, R. (2012). Phytoremediation of lead from wastewater using aquatic plants. *Journal of Agricultural Technology*, 8(1): 1-11.
- Sugiat, D. (2010) Penetapan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Dedak Beberapa Varietas Padi (*Oryza sativa L.*). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Universitas Indonesia.
- Supardan, M., Fuadi, A., Alam, P., & Arpi, N. (2011). Solvent Extraction of Ginger Leoresin Using Ultrasound. *Makara Sains*. 15: 163-167.
- Suresh, B., & Ravishankar, G. A. (2004). Phytoremediation—A novel and Promising Approach for Environmental Clean-up. *Critical Reviews in Biotechnology* 24, 2(3): 97-110.
- Susilaningsih, D. 1992. Pemanfaatan Tumbuhan *Hydrilla verticillata* dan *Eichornia crassipes* sebagai Salah satu Usaha Pengendalian Pencemaran Logam Kromium (Cr) dari Limbah Pelapisan Logam. Skripsi. Purwokerto : Fakultas Biologi. Universitas Jenderal Soedirman, 75 hal.
- Tanor, M. N. 2004. *Hydrilla verticillata* sebagai sumber hara pada sistem Budidaya Kacang Tanah. *Eugenia*. 10 (1) : 92.
- Vogel. 1979 *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro Edisi Kelima*. Jakarta PT Kalman Media Pustaka.
- Wardani Y.K., Kristiani E.B.E., Sucahyo. 2020. Kolerasi Antara Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Senyawa Fenolik dan Lokasi Tumbuh Tanaman *Celosia argentea Linn.* *Jurnal Bioma*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana. Vol. 22, No. 2, Hal. 136-142.
- Widyaputri, D., Purbowati, I. S. M., & Wibowo, C. (2022). Pengaruh Waktu Ekstraksi Menggunakan Ultrasonic Assisted Extraction terhadap Antosianin Jantung Pisang (*Musa spp.*). *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 16(2): 242-251.

- Winata, E., & Yuniarta. (2015). Ekstraksi Antosianin Buah Murbei (*Morus alba* L.) Metode Ultrasonic Bath (Kajian Waktu dan Rasio Bahan: Pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2): 773-783.
- Zhuang, B., Ramanauskaite, G., Koa, Z. Y., & Wang, Z. G. (2021). Like Dissolve Like: A First-Principles Theory for Predicting Liquid Miscibility and Mixture Dielectric Constant. *Science Advance*. 7(7).



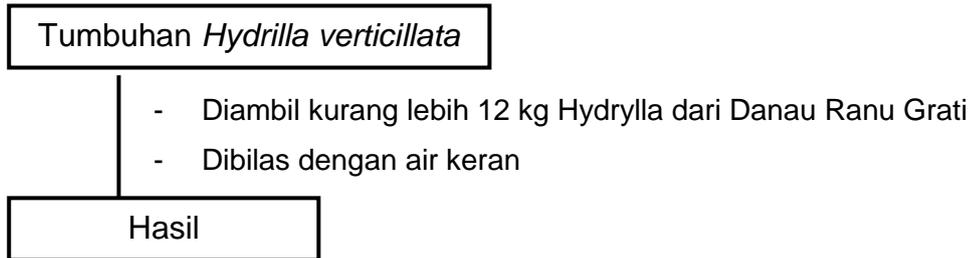
## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Rancangan Penelitian

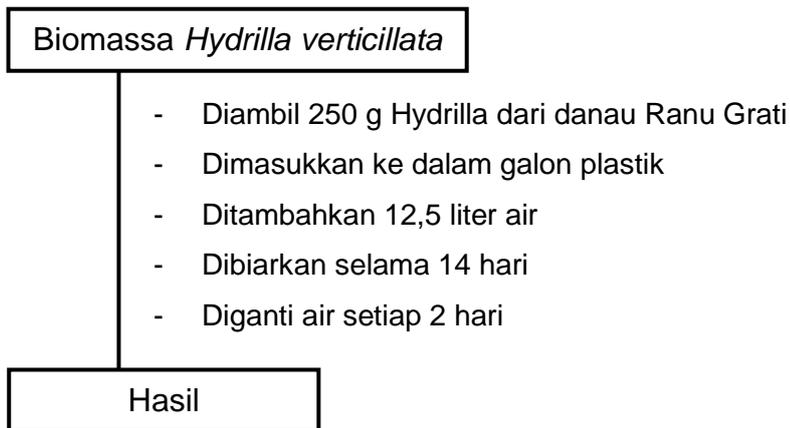


## Lampiran 2 Diagram Alir Penelitian

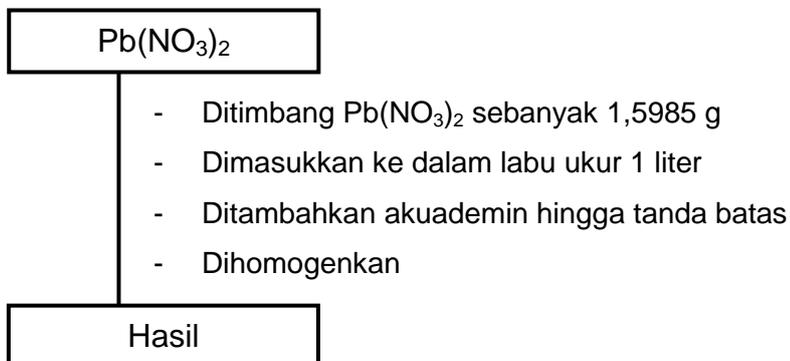
### 2.1 Pengambilan Tumbuhan *Hydrilla verticillata*



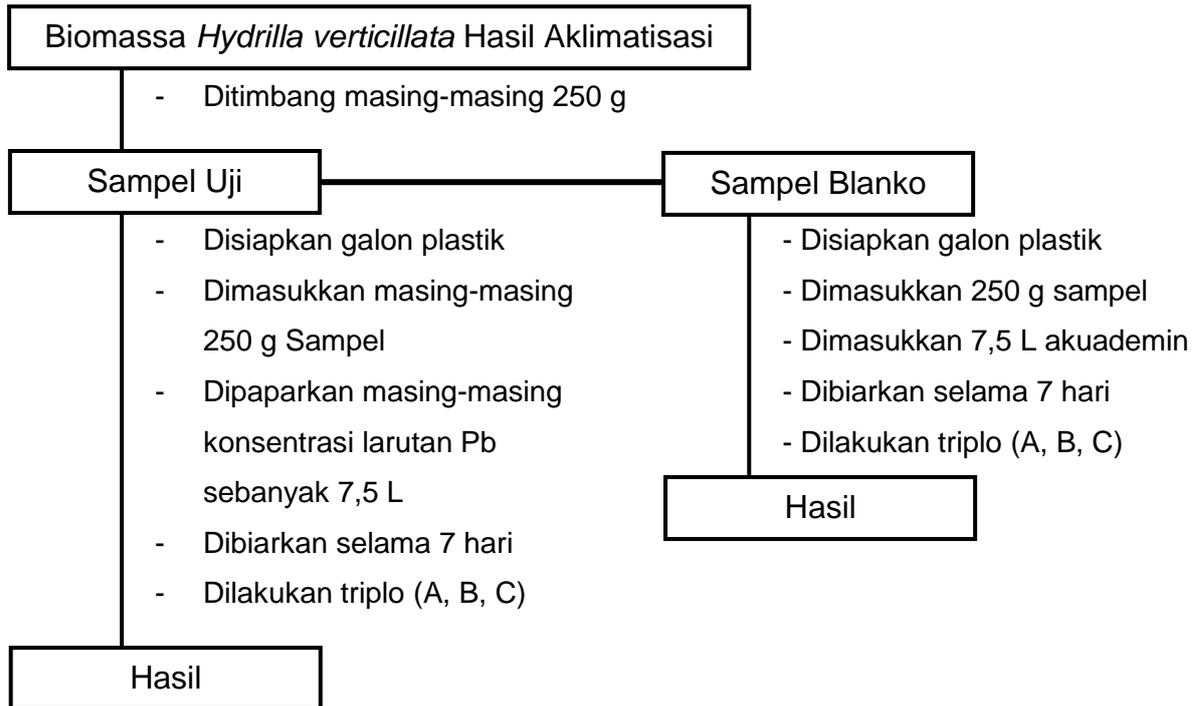
### 2.2 Aklimatisasi Biomassa *Hydrilla verticillata*



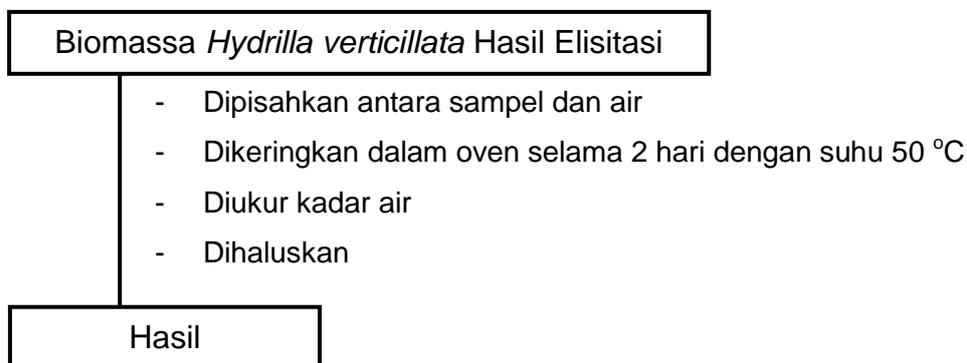
### 2.3 Preparasi Larutan Logam Berat Pb 1000 ppm Untuk Elisitasi



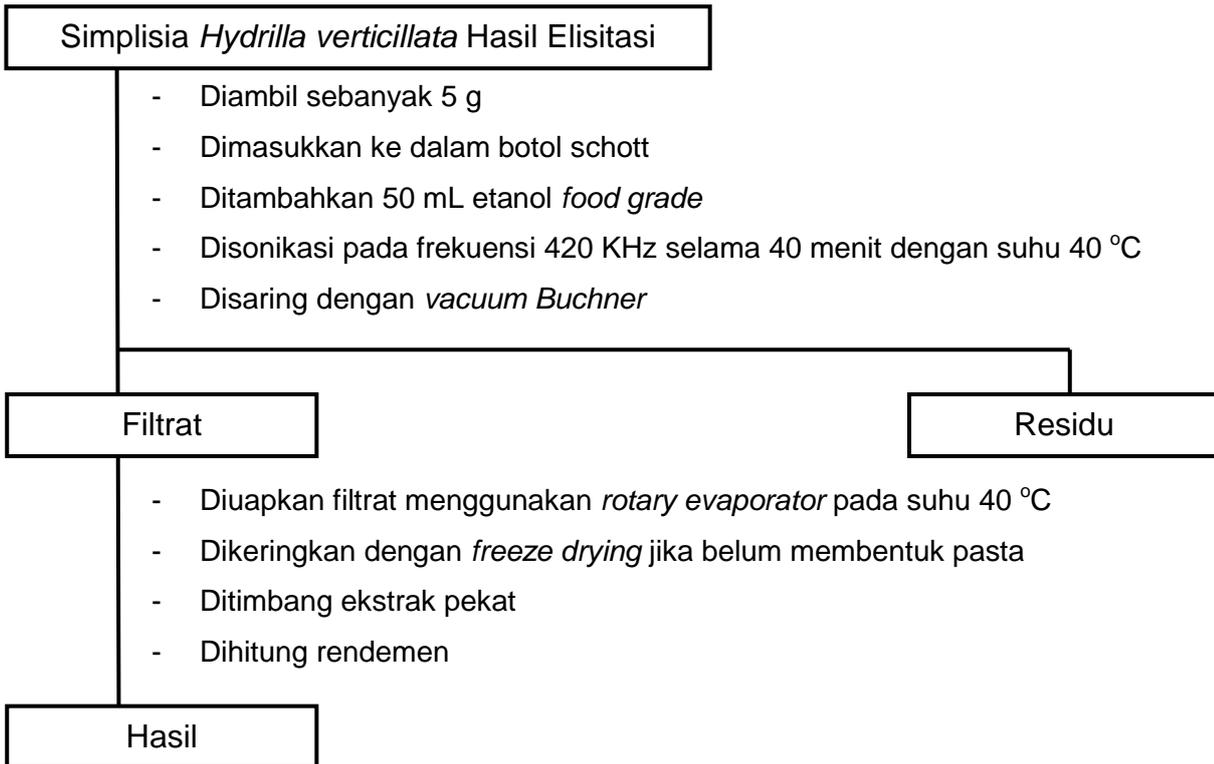
## 2.4 Elisitasi *Hydrilla verticillata* Menggunakan Logam Berat Timbal (Pb)



## 2.5 Preparasi Biomassa *Hydrilla verticillata* Hasil Elisitasi

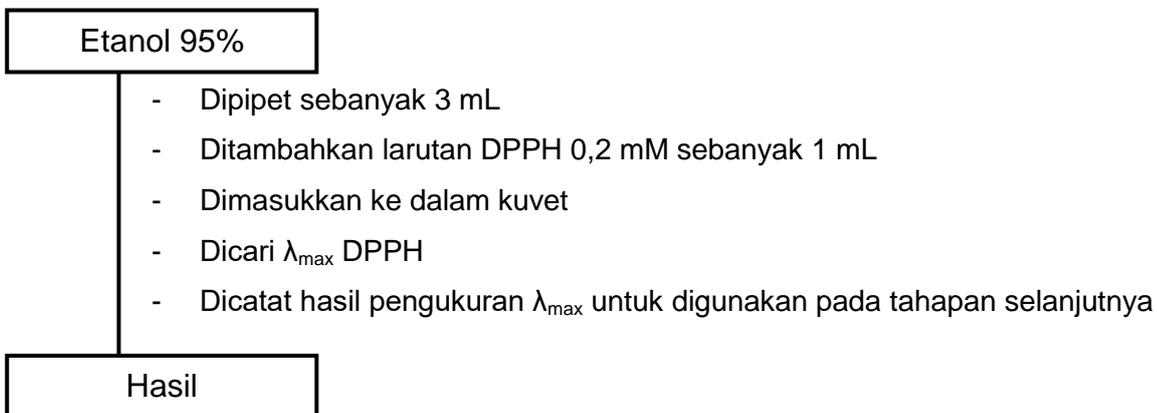


## 2.6 UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) Terhadap Biomassa *Hydrilla verticillata*

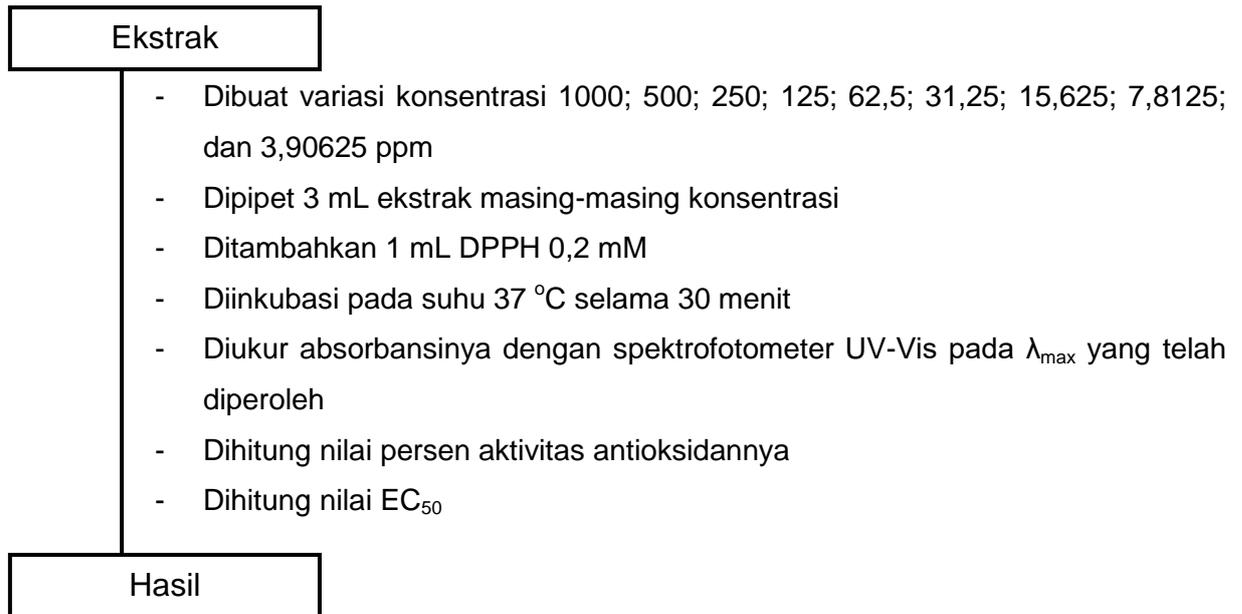


## 2.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

### 2.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

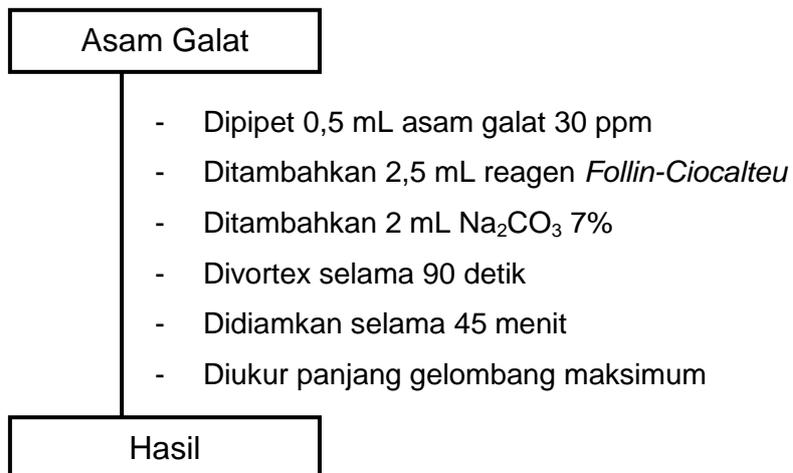


## 2.7.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel *Hydrilla verticillata*

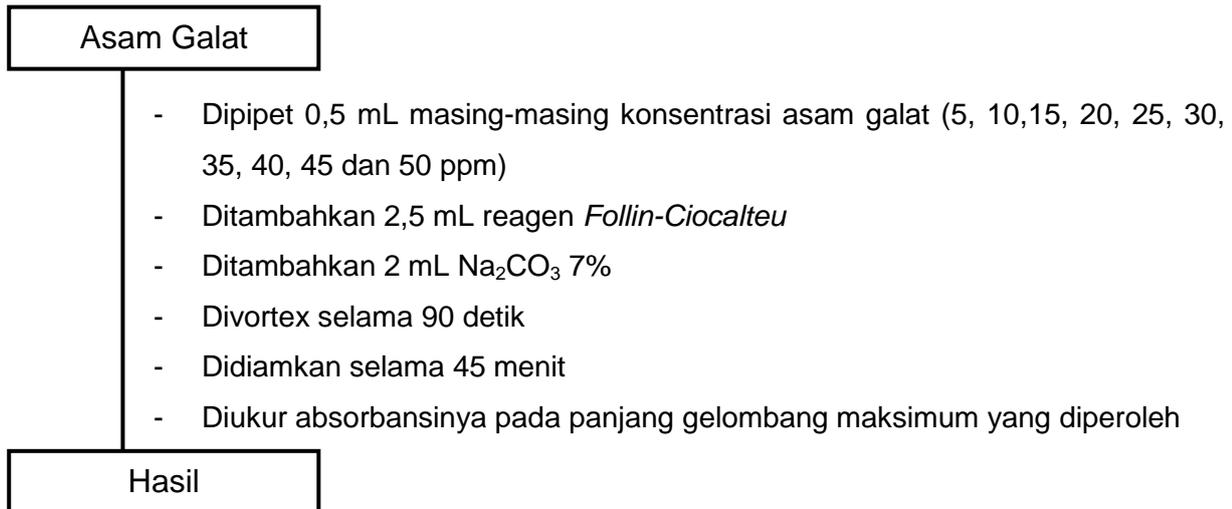


## 2.8 Uji Total Fenol pada Sampel *Hydrilla verticillata*

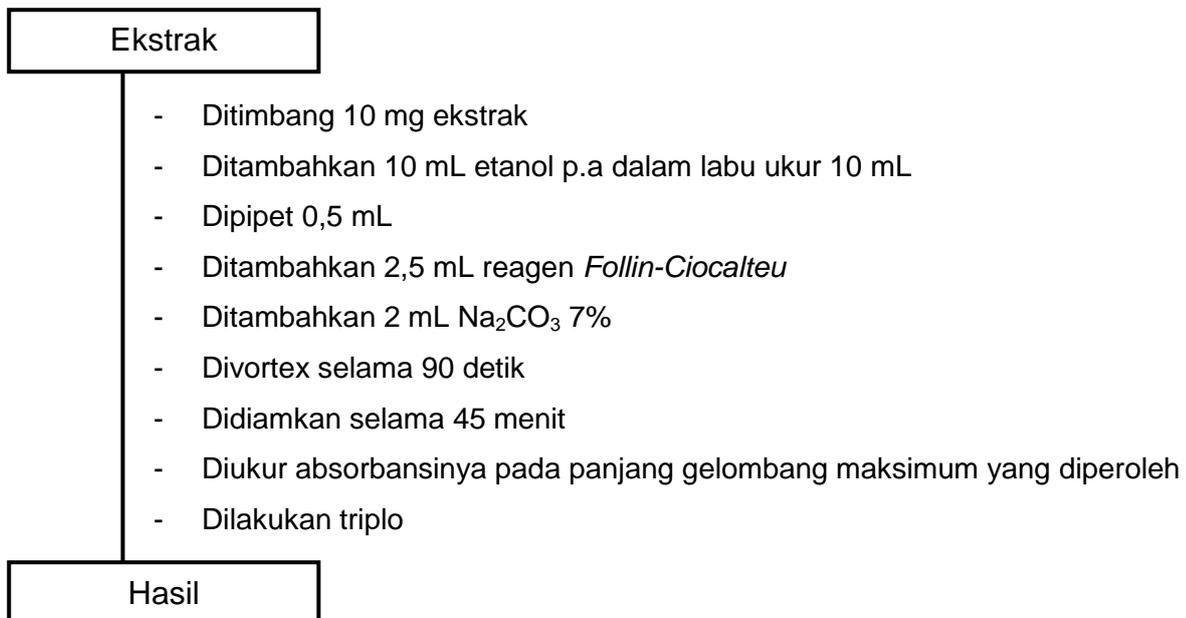
### 2.8.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum



### 2.8.2 Pembuatan Kurva Standar



### 2.8.3 Penentuan Kadar Total Fenol Ekstrak *Hydrilla verticillata*



### Lampiran 3 Perhitungan

#### 3.1 Pembuatan Larutan Pb<sup>2+</sup> untuk Elisitasi

##### 3.1.1 Pembuatan Larutan Stok Pb<sup>2+</sup> 1000 ppm

$$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 (\text{s}) \rightleftharpoons \text{Pb}^{2+} (\text{aq}) + 2 \text{NO}_3^- (\text{aq})$$

$$\text{Massa Pb}(\text{NO}_3)_2 = \frac{\text{Konsentrasi (ppm)} \times \text{Volume (L)} \times \text{Mr Pb}(\text{NO}_3)_2 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}}\right)}{\text{Ar Pb} \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}}\right)}$$

$$= \frac{1000 \left(\frac{\text{mg}}{\text{mol}}\right) \times 1 \text{ L} \times 331,21 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}}\right)}{207,199 \left(\frac{\text{g}}{\text{mol}}\right)}$$

$$= 1598,51 \text{ mg}$$

$$= 1,59851 \text{ g}$$

Keterangan: pembuatan larutan stok Pb<sup>2+</sup> 1000 ppm yaitu dibuat dengan melarutkan 1,59851 g Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ke dalam 1000 mL (1 L) aquademin.

##### 3.1.2 Pembuatan Larutan Pb<sup>2+</sup> konsentrasi (0, 30, 35, 40, 45, 50) ppm dari larutan Stok Pb 1000 ppm

###### 1. Konsentrasi Pb<sup>2+</sup> 0 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 0 \text{ ppm} \cdot 7500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0 \text{ mL}$$

$$\text{Pengulangan 3x} = 0 \text{ mL}$$

###### 2. Konsentrasi Pb<sup>2+</sup> 30 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 30 \text{ ppm} \cdot 7500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 225 \text{ mL}$$

$$\text{Pengulangan 3x} = 675 \text{ mL}$$

###### 3. Konsentrasi Pb<sup>2+</sup> 35 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 35 \text{ ppm} \cdot 7500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 262,5 \text{ mL}$$

$$\text{Pengulangan 3x} = 787,5 \text{ mL}$$

###### 4. Konsentrasi Pb<sup>2+</sup> 40 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 40 \text{ ppm} \cdot 7500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 300 \text{ mL}$$

$$\text{Pengulangan 3x} = 900 \text{ mL}$$

###### 5. Konsentrasi Pb<sup>2+</sup> 45 ppm

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \cdot V_1 = 45 \text{ ppm} \cdot 7500 \text{ mL}$$

$$V_1 = 337,5 \text{ mL}$$

$$\text{Pengulangan 3x} = 1012,5 \text{ mL}$$

6. Konsentrasi  $Pb^{2+}$  50 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 50 \text{ ppm} \cdot 7500 \text{ mL} \\
 V_1 &= 375 \text{ mL} \\
 \text{Pengulangan } 3x &= 1125 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Keterangan: apabila menggunakan larutan stok  $Pb^{2+}$  1000 ppm dengan pengulangan 3x elisitasi, maka diperlukan larutan stok  $Pb^{2+}$  sebanyak 5062,5 mL (5,0625 L).

## 3.2 Pembuatan Larutan untuk Uji Antioksidan

## 3.2.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

- DPPH = 15,01 mg
- Etanol p.a = 190 mL

Keterangan: sampel yang diuji adalah sebanyak 189 sampel. Pembuatan dilakukan pada kondisi gelap untuk meminimalisir senyawa DPPH rusak karena cahaya

## 3.2.1 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak 1000 ppm

- Ekstrak = 10 mg
- Etanol p.a = 10 mL

Pembuatan larutan stok ekstrak dapat dilakukan dengan menimbang 10 mg ekstrak dan ditandabatkan dengan etanol p.a pada labu ukur 10 mL.

## 3.2.3 Pembuatan Larutan Ekstrak (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; dan 3,90625) ppm

## 1. Konsentrasi 500 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 1000 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 500 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= 5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

## 2. Konsentrasi 250 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 500 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 250 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= 5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

## 3. Konsentrasi 125 ppm

$$\begin{aligned}
 M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\
 250 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 125 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\
 V_1 &= 5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

4. Konsentrasi 62,5 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 125 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 62,5 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

5. Konsentrasi 31,25 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 62,5 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 31,25 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

6. Konsentrasi 15,625 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 31,25 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 15,625 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

7. Konsentrasi 7,8125 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 15,625 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 7,8125 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

8. Konsentrasi 3,90625 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \cdot V_1 &= M_2 \cdot V_2 \\ 7,8125 \text{ ppm} \cdot V_1 &= 3,90625 \text{ ppm} \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Pembuatan larutan ekstrak 500 ppm dapat dilakukan dengan mengambil 5 mL larutan ekstrak 1000 ppm dan ditandabatkan dengan etanol p.a pada labu ukur 10 mL. Untuk membuat larutan ekstrak 250 ppm dapat dilakukan dengan mengambil 5 mL larutan ekstrak 500 ppm dan ditandabatkan dengan etanol p.a pada labu ukur 10 mL. perlakuan dilanjutkan sampai diperoleh larutan ekstrak 3,90625 ppm.

## Lampiran 4 Hasil dan Pembahasan

## 4.1 Data dan Perhitungan Perubahan Massa Sebelum dan Sesudah Aklimatisasi

<b>Massa Aklimatisasi <i>H. verticillata</i> (g)</b>					
<b>No.</b>	<b>Sebelum</b>	<b>Sesudah</b>	<b>No.</b>	<b>Sebelum</b>	<b>Sesudah</b>
1	250	211,5	24	250	222,4
2	250	238,9	25	250	195,0
3	250	213,5	26	250	219,6
4	250	216,3	27	250	243,1
5	250	239,2	28	250	236,2
6	250	226,8	29	250	209,7
7	250	202,2	30	250	192,7
8	250	275,4	31	250	220,6
9	250	224,0	32	250	234,0
10	250	228,2	33	250	186,0
11	250	231,7	34	250	242,7
12	250	196,6	35	250	219,3
13	250	247,2	36	250	212,1
14	250	223,3	37	250	234,0
15	250	249,3	38	250	217,2
16	250	208,9	39	250	225,2
17	250	230,3	40	250	184,1
18	250	234,4	41	250	198,4
19	250	213,8	42	250	223,9
20	250	214,8	43	250	195,4
21	250	229,9	44	250	198,44
22	250	269,5	45	250	315,0
23	250	245,8	46	250	234,4
<b>Rata-rata perubahan berat (g)</b>					
<b>Sebelum</b>			<b>Sesudah</b>		
250			10.354,8:46 = <b>225,104</b>		
<b>% rata-rata perubahan massa = (225,104 g /250 g) x 100%</b>					
<b>= 90,042% (berkurang 9,958%)</b>					

## 4.2 Perubahan Fisiologis *Hydrilla verticillata* Hasil Elisitasi

### 4.2.1 Perubahan Fisik Selama Pemaparan 7 Hari

Konsentrasi Elisitor (ppm)	Waktu Pemaparan (hari)	Penampakan Fisik
0	0	
	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	

Konsentrasi Elisitor (ppm)	Waktu Pemaparan (hari)	Penampakan Fisik
30	0	
	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	

Konsentrasi Elisitor (ppm)	Waktu Pemaparan (hari)	Penampakan Fisik
35	0	
	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	

Konsentrasi Elisitor (ppm)	Waktu Pemaparan (hari)	Penampakan Fisik
40	0	
	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	

Konsentrasi Elisitor (ppm)	Waktu Pemaparan (hari)	Penampakan Fisik
45	0	
	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	

Konsentrasi Elisitor (ppm)	Waktu Pemaparan (hari)	Penampakan Fisik
50	0	
	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	

## 4.2.2 Data dan Perhitungan Perubahan Massa Sebelum dan Sesudah Elisitasi

<b>Massa Hydrilla verticillata Hasil Elisitasi (g)</b>					
<b>Konsentrasi 0 ppm</b>			<b>Konsentrasi 40 ppm</b>		
<b>P</b>	<b>Sebelum</b>	<b>Sesudah</b>	<b>P</b>	<b>Sebelum</b>	<b>Sesudah</b>
A	250	306,1	A	250	278,0
B	250	304,0	B	250	199,7
C	250	300,0	C	250	285,4
Rata-rata		<b>303,367</b>	Rata-rata		<b>254,367</b>
<b>Konsentrasi 30 ppm</b>			<b>Konsentrasi 45 ppm</b>		
<b>P</b>	<b>Sebelum</b>	<b>Sesudah</b>	<b>P</b>	<b>Sebelum</b>	<b>Sesudah</b>
A	250	281,7	A	250	274,9
B	250	292,2	B	250	207,0
C	250	286,0	C	250	280,5
Rata-rata		<b>298,233</b>	Rata-rata		<b>254,133</b>
<b>Konsentrasi 35 ppm</b>			<b>Konsentrasi 50 ppm</b>		
<b>P</b>	<b>Sebelum</b>	<b>Sesudah</b>	<b>P</b>	<b>Sebelum</b>	<b>Sesudah</b>
A	250	273,6	A	250	214,1
B	250	284,6	B	250	245,1
C	250	286,3	C	250	244,0
Rata-rata		<b>286,633</b>	Rata-rata		<b>234,400</b>

#### 4.2.3 Data dan Perhitungan Perubahan % Massa Setelah Elisitasi

##### % Perubahan Massa Elisitasi

% Perubahan Massa Elisitasi =  $\frac{\text{berat rata-rata setelah elisitasi} - \text{berat sebelum elisitasi}}{\text{berat sebelum elisitasi}} \times 100\%$

##### % Penurunan / Penambahan Massa Elisitasi

% Penurunan / Penambahan Massa Elisitasi =  $100\% \pm$  % perubahan massa elisitasi

Perubahan Massa Setelah Elisitasi			
Konsentrasi (ppm)	Perubahan (%)	Penurunan (%)	Penambahan (%)
0	120,147	-	20,147
30	114,653	-	14,653
35	112,600	-	12,600
40	101,747	-	1,747
45	101,653	-	1,653
50	93,760	6,24%	-

#### 4.3 Data dan Perhitungan Massa Biomassa *Hydrilla verticillata* Hasil Elisitasi

<b>Massa Biomassa <i>Hydrilla verticillata</i> hasil Elisitasi (g)</b>					
<b>Konsentrasi 0 ppm</b>			<b>Konsentrasi 40 ppm</b>		
<b>P</b>	<b>Basah</b>	<b>Kering</b>	<b>P</b>	<b>Basah</b>	<b>Kering</b>
A	306,1	11,8151	A	278,0	9,8236
B	304,0	12,8349	B	199,7	7,1152
C	300,0	12,1805	C	285,4	10,5267
<b>Konsentrasi 30 ppm</b>			<b>Konsentrasi 45 ppm</b>		
<b>P</b>	<b>Basah</b>	<b>Kering</b>	<b>P</b>	<b>Basah</b>	<b>Kering</b>
A	281,7	10,1797	A	274,9	10,8245
B	292,2	11,8840	B	207,0	8,1694
C	286,0	12,8237	C	280,5	13,2502
<b>Konsentrasi 35 ppm</b>			<b>Konsentrasi 50 ppm</b>		
<b>P</b>	<b>Basah</b>	<b>Kering</b>	<b>P</b>	<b>Basah</b>	<b>Kering</b>
A	273,6	10,5727	A	214,1	10,3143
B	284,6	11,9681	B	245,1	9,8170
C	286,3	11,6961	C	244,0	10,8704

#### 4.4 Data dan Perhitungan Persen Rendemen Biomassa *Hydrilla verticillata* Hasil Elisitasi

##### 4.4.1 Rendemen Serbuk Biomassa Hasil Elisitasi

% Rendemen hasil Elisitasi = berat kering hasil elisitasi / berat basah hasil elisitasi x 100%

% Rendemen Biomassa Hasil Elisitasi			
Konsentrasi (ppm)	Pengulangan	% Rendemen	Rata-Rata (%)
0	A	3,86	4,06
	B	4,26	
	C	4,06	
30	A	3,61	4,05
	B	4,07	
	C	4,48	
35	A	3,86	4,05
	B	4,20	
	C	4,09	
40	A	3,53	3,95
	B	3,56	
	C	3,69	
45	A	3,94	4,20
	B	3,95	
	C	4,72	
50	A	4,82	4,43
	B	4,00	
	C	4,46	

#### 4.5 Data dan Perhitungan Kadar Air Biomassa *Hydrilla verticillata* Hasil Elisitasi

##### 4.5.1 Persen Kadar Air Serbuk Biomassa Hasil Elisitasi

% Kadar Air Biomassa Hasil Elisitasi			
Konsentrasi (ppm)	Pengulangan	% Kadar Air	Rata-Rata (%)
0	A	8,38	7,74
	B	7,55	
	C	7,31	
30	A	8,10	7,93
	B	8,04	
	C	7,65	
35	A	6,50	6,45
	B	6,13	
	C	6,71	
40	A	6,89	7,05
	B	6,77	
	C	7,48	
45	A	5,52	6,27
	B	7,24	
	C	6,06	
50	A	7,60	7,13
	B	6,80	
	C	7,00	

#### 4.6 Data dan Perhitungan Persen Rendemen Ekstrak Pekat *Hydrilla verticillata* Hasil Elisitasi

##### 4.6.1 Rendemen Ekstrak *Hydrilla verticillata* Hasil Elisitasi

$$\% \text{ Rendemen ekstrak pekat} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

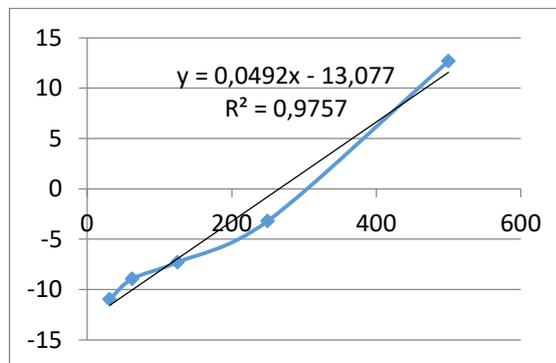
% Rendemen Ekstrak Pekat <i>Hydrilla verticillata</i> Hasil Elisitasi							
Konsentrasi (ppm)	Pengulangan	Vial Kosong (g)	Vial Kosong + Ekstrak (g)	Massa (g)		% Rendemen	% Rata - Rata
				Sampel	Ekstak Pekat		
0	A	92,1363	92,2522	5	0,1159	2,318	2,23
	B	89,6749	89,7817	5	0,1068	2,136	
30	A	90,9970	91,2110	5	0,2140	4,280	4,19
	B	91,4685	91,6735	5	0,2050	4,100	
35	A	92,8255	92,9413	5	0,1158	2,316	2,51
	B	95,4831	96,6178	5	0,1347	2,694	
40	A	90,2083	90,4464	5	0,2381	4,762	4,94
	B	89,6423	89,8982	5	0,2559	5,118	
45	A	101,8586	102,9629	5	0,2040	4,080	4,12
	B	98,9659	99,1733	5	0,2074	4,148	
50	A	100,7032	100,8562	5	0,1530	3,060	3,17
	B	90,0873	90,2513	5	0,1640	3,280	

## 4.7 Data dan Perhitungan Uji Antioksidan Ekstrak *Hydrilla verticillata* Menggunakan Metode DPPH

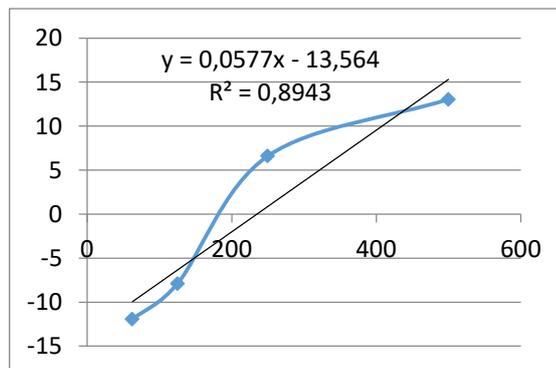
### 4.7.1 Konsentrasi 0 ppm

Konsentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Persen Inhibisi	Rata-rata
3,90625	0,4147	0,5144	-24,04147577	-24,14963
	0,4143	0,5148	-24,25778421	
7,8125	0,4180	0,8443	-101,9856459	-67,061672
	0,4154	0,5489	-32,1376986	
15,625	0,4142	0,5545	-33,87252535	-36,236191
	0,4171	0,5781	-38,59985615	
31,25	0,4145	0,4599	-10,95295537	-11,23968
	0,4147	0,4625	-11,52640463	
62,5	0,4144	0,4514	-8,928571429	-10,429579
	0,4149	0,4644	-11,93058568	
125	0,4143	0,4445	-7,289402814	-7,5828512
	0,4139	0,4465	-7,876298623	
250	0,4144	0,4276	-3,185328185	1,70933639
	0,4149	0,3875	6,604000964	
500	0,4149	0,3623	12,67775368	12,8616644
	0,4147	0,3606	13,04557511	
1000	0,4144	0,4383	-5,767374517	-4,9479074
	0,4142	0,4313	-4,128440367	

#### Persamaan regresi pengulangan 1



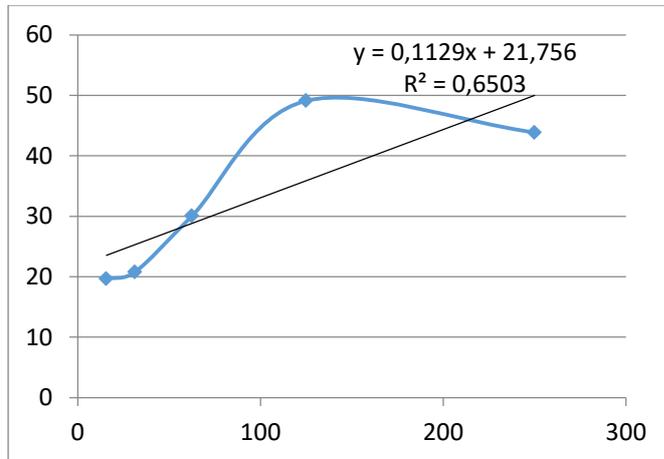
#### Persamaan regresi pengulangan 2



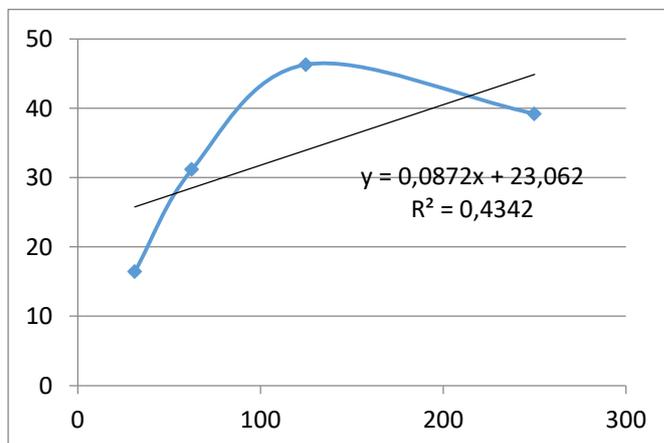
### 4.7.2 Konsentrasi 30 ppm

Konsentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Persen Inhibisi	Rata-rata
3,90625	0,3242	0,2787	14,0345466	14,384423
	0,3312	0,2824	14,7342995	
7,8125	0,3317	0,2643	20,3195659	18,2077829
	0,3125	0,2622	16,096	
15,625	0,3150	0,2530	19,6825397	22,8434498
	0,3211	0,2376	26,00436	
31,25	0,3042	0,2410	20,7758054	18,621436
	0,3006	0,2511	16,4670659	
62,5	0,3035	0,2123	30,0494234	30,604894
	0,3068	0,2112	31,1603651	
125	0,3100	0,1578	49,0967742	47,6926335
	0,3085	0,1657	46,2884927	
250	0,3062	0,1719	43,8602221	41,52493
	0,3011	0,1831	39,189638	
500	0,3105	0,3295	-6,1191626	-12,3355994
	0,3094	0,3668	-18,552036	
1000	0,3188	0,6299	-97,584693	-125,515404
	0,3192	0,8090	-153,44612	

#### Persamaan regresi pengulangan 1



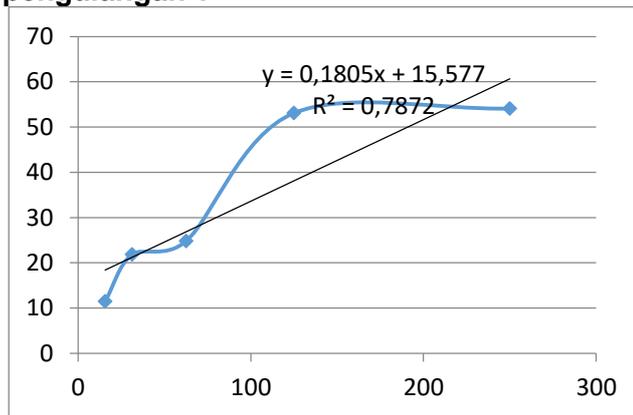
#### Persamaan regresi pengulangan 2



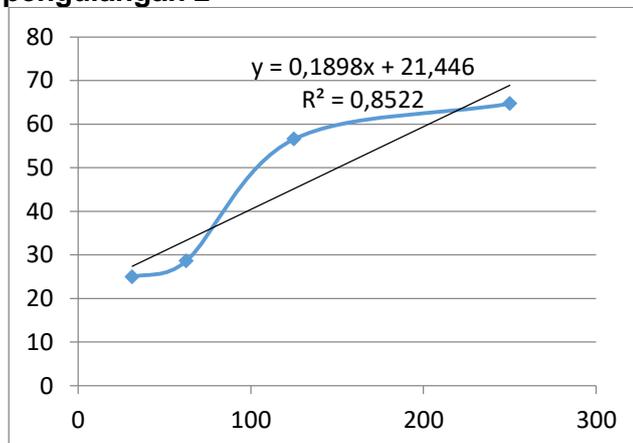
## 4.7.2 Konsentrasi 35 ppm

Konsentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Persen Inhibisi	Rata-rata
3,90625	0,3795	0,3302	12,9907773	11,494059
	0,3761	0,3385	9,99734113	
7,8125	0,3760	0,3458	8,03191489	6,289289
	0,3761	0,3590	4,54666312	
15,625	0,3759	0,3328	11,4658154	5,0949492
	0,3762	0,3810	-1,27591707	
31,25	0,3774	0,2949	21,8600954	23,403508
	0,3768	0,2828	34,9469214	
62,5	0,3774	0,2838	24,8012719	26,680689
	0,3785	0,2704	28,5601057	
125	0,3779	0,1773	53,0828261	54,810338
	0,3778	0,1642	56,5378507	
250	0,3785	0,1738	54,0819022	59,386923
	0,3798	0,1341	64,6919431	
500	0,3786	0,2536	33,0163761	31,820523
	0,3778	0,2621	30,6346691	
1000	0,3785	0,5830	-54,0290621	-56,05147
	0,3790	0,5991	-58,0738786	

## Persamaan regresi pengulangan 1



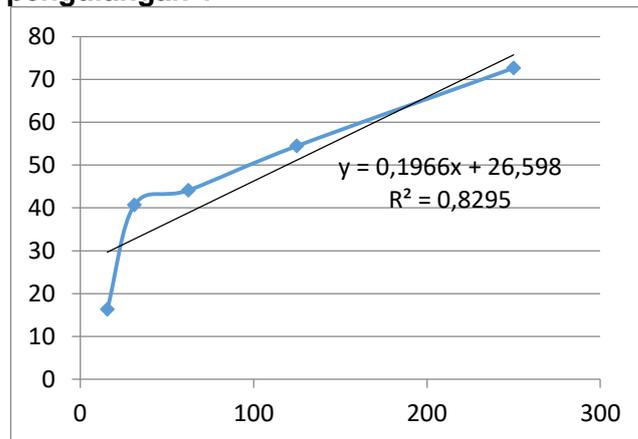
## Persamaan regresi pengulangan 2



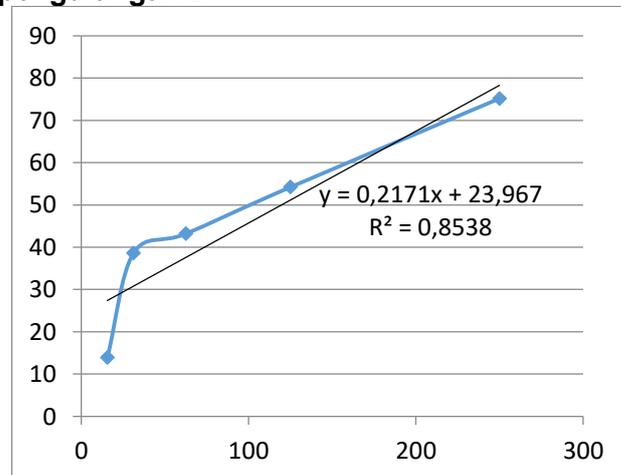
### 4.7.3 Konsentrasi 40 ppm

Konsentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Persen Inhibisi	Rata-rata
3,90625	0,9040	0,7501	17,02433628	19,470543
	0,9057	0,7072	21,91674948	
7,8125	0,9057	0,7275	19,6753892	15,135123
	0,9061	0,8101	10,59485708	
15,625	0,9075	0,7593	16,33057851	15,115096
	0,9065	0,7805	13,8996139	
31,25	0,9096	0,5397	40,66622691	39,620083
	0,9102	0,5591	38,57393979	
62,5	0,9088	0,5078	44,12411972	43,647211
	0,9078	0,5159	43,17030183	
125	0,9098	0,4144	54,45152871	54,323282
	0,9106	0,4171	54,19503624	
250	0,9114	0,2494	72,63550582	73,890451
	0,9113	0,2265	75,14539669	
500	0,9116	0,2743	69,91004827	70,299852
	0,9106	0,3669	70,68965517	
1000	0,9089	0,5799	36,26071664	36,075699
	0,9111	0,5841	35,89068159	

#### Persamaan regresi pengulangan 1



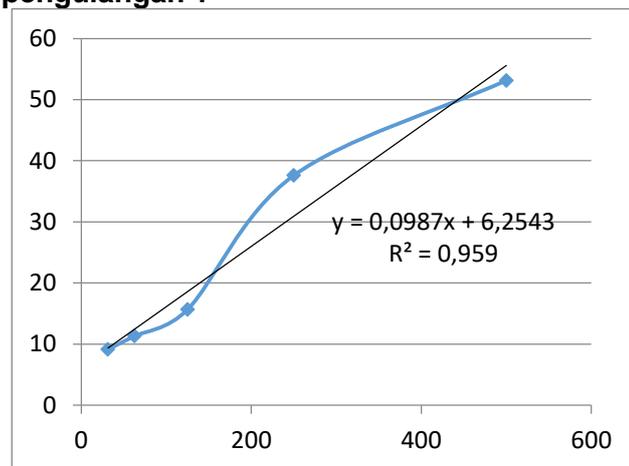
#### Persamaan regresi pengulangan 2



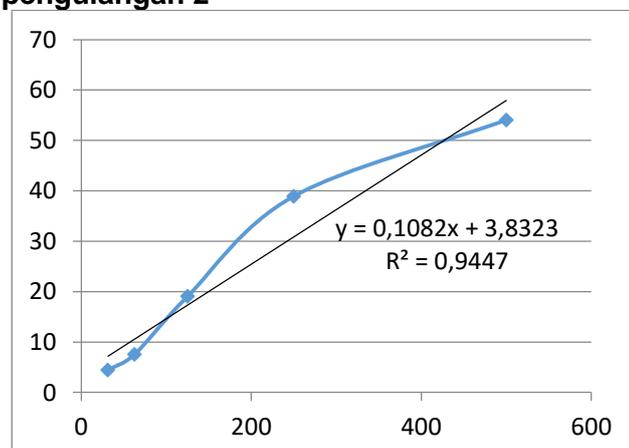
## 4.7.4 Konsentrasi 45 ppm

Konsentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Persen Inhibisi	Rata-rata
3,90625	1,2168	1,2631	-3,8050625	-4,426333
	1,2184	1,2799	-5,0476034	
7,8125	1,2192	1,5074	-23,638451	-27,48983
	1,2198	1,6021	-31,341203	
15,625	1,2215	1,4980	-22,636103	-21,81268
	1,2292	1,4872	-20,989261	
31,25	1,2215	1,1098	9,14449447	6,7916538
	1,2233	1,1690	4,43881305	
62,5	1,2228	1,0844	11,3182859	9,4239449
	1,2245	1,1323	7,52960392	
125	1,2232	1,0316	15,6638326	17,354361
	1,2208	0,9883	19,0448886	
250	1,2201	0,7614	37,5952791	38,258913
	1,2214	0,7460	38,9225479	
500	1,2214	0,5725	53,1275585	53,589811
	1,2216	0,5613	54,0520629	
1000	1,2220	0,8240	32,5695581	31,177353
	1,2241	0,8595	29,7851483	

## Persamaan regresi pengulangan 1



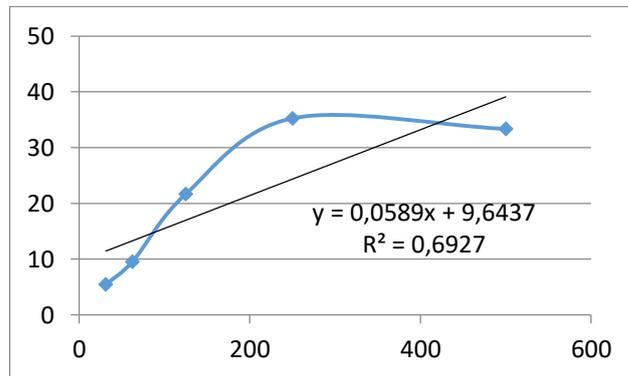
## Persamaan regresi pengulangan 2



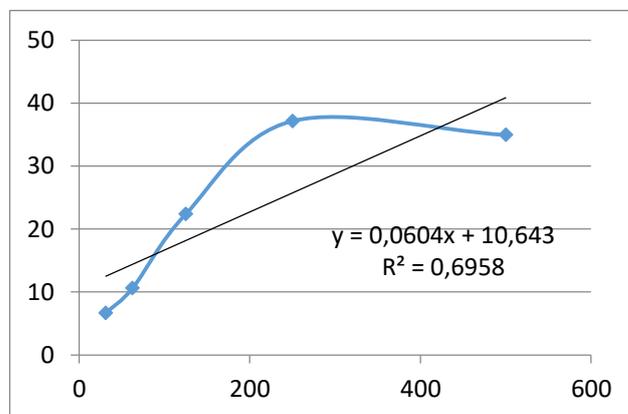
## 4.7.5 Konsentrasi 50 ppm

Konsentrasi	Abs. Kontrol	Abs. Sampel	Persen Inhibisi	Rata-rata
3,90625	0,4398	0,4319	1,796271032	-0,06229
	0,4321	0,4404	-1,92085165	
7,8125	0,4322	0,4573	-5,80749653	-5,184897
	0,4318	0,4515	-4,56229736	
15,625	0,4323	0,4428	-2,42886884	-2,362926
	0,4310	0,4409	-2,29698376	
31,25	0,4305	0,4070	5,458768873	6,0634922
	0,4304	0,4017	6,668215613	
62,5	0,4308	0,3896	9,5636026	10,078363
	0,4333	0,3874	10,59312255	
125	0,4304	0,3371	21,67750929	22,02327
	0,4314	0,3349	22,36903106	
250	0,4329	0,2804	35,25063525	36,199731
	0,4307	0,2707	37,14882749	
500	0,4301	0,2867	33,34108347	34,131597
	0,4301	0,2799	34,92211114	
1000	0,4289	0,5335	-24,3879692	-22,79757
	0,4291	0,5201	-21,2071778	

## Persamaan regresi pengulangan 1



## Persamaan regresi pengulangan 2

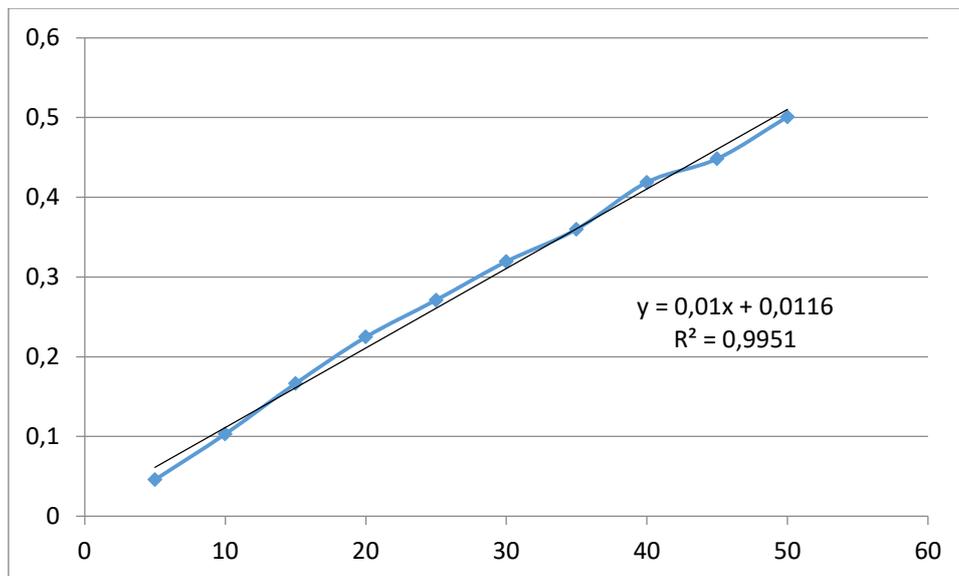


#### 4.8 Data dan Perhitungan Uji Toal Fenolik Ekstrak *Hydrilla verticillata*

##### 4.8.1 Kurva standar Asam Galat

Kurva Standard Asam Galat	
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,0458
10	0,1031
15	0,1664
20	0,2247
25	0,2711
30	0,3294
35	0,3599
40	0,4188
45	0,4483
50	0,5009

Kurva standar asam galat

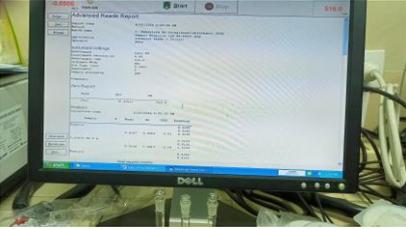


##### 4.8.2 Uji Total Fenol

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	ug/mL	mg/mL	TPC (mg GAE/g)	Rata-Rata (mg GAE/g)
0	0,1252	11,36	0,01136	11,36	11,68666667
	0,1196	10,8	0,0108	10,8	
	0,1406	12,9	0,0129	12,9	
40	0,5561	54,45	0,05445	54,45	51,34333333
	0,5225	51,09	0,05109	51,09	
	0,4965	48,49	0,04849	48,49	

## Lampiran 5 Bukti Dokumentasi Penelitian

Tahapan Prosedur Kerja	Gambar	Keterangan
Preparasi dan Aklimatisasi Tumbuhan <i>Hydrilla verticillata</i>		Preparasi Sampel <i>Hydrilla verticillata</i>
		Aklimatisasi selama 14 hari
Elisitasi Menggunakan Logam Berat Timbal ( $Pb^{2+}$ )		Pembuatan Larutan Stok Pb 1000 ppm
		Elisitasi Logam Berat Timbal (Pb) terhadap <i>Hydrilla verticillata</i>
Preparasi Biomassa <i>Hydrilla verticillata</i> Hasil Elisitasi		Penyerbukan dan Pengeringan Sampel <i>Hydrilla verticillata</i> di Materia Medica Batu

<p>UAE (Ultrasonic Assisted Extraction) terhadap Biomassa <i>Hydrilla verticillata</i></p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ekstaksi menggunakan sonikator <i>waterbath</i> selama 40 menit</li> <li>• Penyaringan menggunakan corong Buchner</li> <li>• Pemekatan dengan <i>rotary evaporator</i></li> </ul>
<p>Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar <i>Hydrilla verticillata</i> Menggunakan DPPH</p>		<p>Uji Antioksidan</p>
		<p>Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis</p>
<p>Uji Total Fenolik Ekstrak Kasar <i>Hydrilla verticillata</i></p>		<p>Pembuatan Larutan Uji Total Fenol</p>

## Lampiran 6 Rancangan Anggaran Penelitian Skripsi

## RANCANGAN ANGGARAN PENELITIAN SKRIPSI

Nama/NIM	:	Muhammad Akmal Fauzan/200603110019
Dosen Pembimbing Skripsi	:	A. Ghanaim Fasya, M. Si
Judul Skripsi	:	Pengaruh Variasi Konsentrasi Elisitor Logam Pb Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol <i>Hydrilla verticillata</i> Danau Ranu Grati Pasuruan

No.	Uraian	Merek	Jumlah		Harga Satuan	Total Harga	Sumber Dana	Asal
			Vol.	Satuan				
1.	Akuademin	-	140	Liter	Rp 6.000	Rp 840.000	Mandiri	Amani Media
2.	Timbal Nitrat (Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	SMART-LAB	10	Gram	Rp 3.000	Rp 30.000	Mandiri	Phy-edumedia
3.	Akuades	SMART-LAB	5	Liter	Rp 18.000	Rp 90.000	Mandiri	Phy-edumedia
4.	Etanol food grade 96%	-	7	Liter	Rp 100.000	Rp 700.000	Mandiri	Nurra Gemilang
5.	Plastic Wrap	-	1	Roll	Rp 10.000	Rp 10.000	Mandiri	Nurra Gemilang
6.	Botol Vial 10 mL	-	280	Buah	Rp 1.000	Rp 280.000	Mandiri	Nurra Gemilang
7.	DPPH	-	25	Mg	Rp 9.000	Rp 225.000	Mandiri	Nurra Gemilang
8.	Aluminium Foil	-	1	Roll	Rp 10.000	Rp 10.000	Mandiri	Nurra Gemilang
9.	Reagen Follin-Ciocalteu	-	20	mL	Rp 8.820	Rp 176.400	Mandiri	Nurra Gemilang
10.	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	SMART LAB	10	Gram	Rp 3.500	Rp 35.000	Mandiri	Nurra Gemilang
11.	Biaya UV-Vis	-	481	Sampel	Rp 1.000	Rp 481.000	Mandiri	UIN Malang
12.	Biaya Penyerbukan	-	18	Buah	Rp 10.000	Rp 180.000	Mandiri	Materia Medica Batu
<b>Total Biaya</b>						<b>Rp 3.057.400</b>		

## Lampiran 7 Jadwal Pelaksanaan Penelitian Skripsi

### JADWAL PELAKSANAANN PENELITIAN SKRIPSI

Nama/NIM	:	Muhammad Akmal Fauzan/200603110019
Dosen Pembimbing Skripsi	:	A. Ghanaim Fasya, M.Si
Judul Skripsi	:	Pengaruh Variasi Konsentrasi Elisitor Logam Pb Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol <i>Hydrilla verticillata</i> Danau Ranu Grati Pasuruan

No.	Kegiatan	Tanggal Kegiatan
1.	Pelaksanaan seminar proposal skripsi	20 Mei 2024
2.	Disetujui oleh pembimbing skripsi untuk perijinan masuk di laboratorium	30 Mei 2024
3.	Mulai masuk laboratorium untuk mengumpulkan data penelitian skripsi	31 Mei 2024
4.	Mulai proses penulisan pembahasan hasil data penelitian skripsi	1 Juni 2024
5.	Disetujui perizinan bebas tanggungan di laboratorium	16 Juni 2025
6.	Mengikuti ujian komprehensif tulis bidang kimia dan status lulus/tidak lulus	7 Agustus 2025
7.	Mengikuti ujian komprehensif tulis bidang agama dan status lulus/tidak lulus	7 September 2025
8.	Mendaftar seminar hasil	27 Mei 2025
9.	Pelaksanaan seminar hasil	12 Juni 2025
10.	Mendaftar ujian skripsi	13 Juni 2025
11.	Pelaksanaan ujian skripsi	12 Juni 2025
12.	Selesai revisi naskah setelah ujian skripsi	26 Juni 2025