

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Mei-September 2013. Pembuatan ekstrak dan pengujian fitokimia biji teratai di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara. Pengujian *Brine Shrimp* dilakukan di Unit Pelayanan Teknis (UPT) Budidaya Ikan, Dinas Perikanan dan Kelautan Kota Medan. Pengujian efektivitas antimikroba di Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Medan II.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mikroskop, mortar, ayakan mesh 32, labu Erlenmeyer, spatula, blender, pipet tetes, rak tabung, objek glass, *cover glass*, tabung reaksi, timbangan analitik, corong, *rotary evaporator*, *water bath*, corong pemisah, kaki tiga, wadah penetasan, aerasi, sendok teh, tanggok, gelas ukur, botol vial, jarum suntik, cawan Petri, oven, *hot plate*, *stirer*, *autoclave*, *Laminar air flow*, jarum ose, bunsen, inkubator, *beaker glass*, pinset, *micropipet*, *vortex*, jangka sorong dan kertas saring.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji teratai (*Nymphaea pubescens* L.), isolat murni bakteri *Aeromonas hydrophila* diperoleh dari Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Medan II, *Streptococcus agalactiae* diperoleh dari Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar Bogor dan jamur *Saprolegnia* sp., diperoleh dari

Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara, *Thin Layer Chromatography* (TLC), air, garam non-yodium, kista *Artemia salina* (Mackay Marine), pelarut n-Heksana, Etil asetat, Metanol, *Dimethyl sulfoxide* (DMSO), asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, air laut, HCl 2 N, Pb asetat, kloroform isopropanol, FeCl₃ 1%, metanol, NaOH 10%, petroleum bensin, pereaksi Dragendraf, pereaksi Bauchardat, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, *Trypticase soy agar* (TSA), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Brain-Heart Infusion Agar* (BHIA), akuades, alkohol 70%, NaCl 0,9%, kertas cakram, disk kloramfenikol, disk nistatin, kapas, kertas label, aluminium foil. Alat dan bahan yang digunakan terlebih dahulu dilakukan sterilisasi, tahapan sterilisasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

Metode Penelitian

Pembuatan Ekstrak Biji Teratai

Tanaman teratai diperoleh dari kolam Fakultas Pertanian, kolam Perpustakaan Universitas Sumatera Utara dan di sekitar kota Medan. Buah yang sudah tua dipanen, kemudian diambil bijinya. Biji dikeringkan pada suhu ruangan tanpa terkena sinar matahari langsung selama \pm 1 minggu. Biji yang kering akan berwarna kecoklatan atau hitam dan kulitnya keras. Kulit biji dibuang kemudian isi biji ditumbuk dengan mortar dan diblender sehingga menjadi serbuk (simplisia). Selanjutnya simplisia ditimbang sebanyak 300 gram dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 1 liter pelarut n-Heksana. Perendaman (maserasi) dilakukan pada suhu kamar dan tidak boleh terkena sinar matahari, selama \pm 24 jam dilakukan pengadukan sesekali.

Setelah \pm 24 jam, sampel disaring sehingga diperoleh filtrat dan ampas, kemudian filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak biji teratai. Ekstrak dimasukkan ke dalam botol vial dan dilakukan pemekatan ekstrak dengan penangas air (*water bath*) sampai seluruh pelarutnya habis menguap dan diperoleh ekstrak pekat. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap pelarut etil asetat dan metanol secara berturut-turut dengan pengenceran tunggal. Pembuatan ekstrak biji teratai dapat dilihat pada Lampiran 2.

Uji Fitokimia Biji Teratai

Uji fitokimia biji teratai merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa kimia yang terdapat di dalamnya. Tahapan pengujian saponin, steroid/terpenoid, alkaloid dan fenolik dilakukan berdasarkan metode Harborne (1998) dan pengujian glikosida berdasarkan metode Materi Medika Indonesia tahun 1995.

Simplisia sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi pelarut n-Heksana 100 ml kemudian diaduk dan direndam selama 24 jam. Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap pelarut etil asetat dan metanol secara berturut-turut dengan pengenceran tunggal.

a. Pengujian golongan alkaloid

Ekstrak sampel diambil 4 ml dimasukkan masing-masing 1 ml kedalam 4 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, apabila terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam maka sample positif alkaloid. Tabung kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, apabila terbentuk endapan berwarna merah/jingga maka sampel positif alkaloid. Tabung ketiga

ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, apabila terbentuk endapan berwarna putih/kuning maka sampel positif alkaloid. Tabung keempat ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner, apabila terbentuk endapan berwarna coklat maka sampel positif alkaloid.

b. Pengujian golongan fenolik

Ekstrak sampel diambil 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan FeCl_3 1% jika terjadi perubahan warna menjadi hitam maka positif terdapat senyawa senyawa fenolik.

c. Pengujian golongan glikosida

Simplisia ditimbang 3 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan 30 ml campuran etanol 96% - air (7:3), ditambahkan asam sulfat pekat hingga diperoleh pH larutan 2, kemudian direfluks dengan memakai pendingin bola selama 10 menit, kemudian didinginkan lalu disaring.

Filtrat diambil 20 ml ditambahkan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok lalu didiamkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat diekstraksi 3 kali, masing-masing dengan 20 ml campuran pelarut kloroform-isopropanol (3:2) kemudian akan diperoleh dua lapisan, kumpulkan masing-masing sari (sari air dan sari pelarut organik). Pada kumpulan sari pelarut organik ditambahkan natrium sulfat anhidrat, kemudian disaring lalu filtrat diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C . Sisa penguapan dilarutkan dengan 2 ml metanol.

Uji Gula

Filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi, diuapkan diatas penangas air. Sisa filtrat ditambahkan 2 ml air, 5 tetes molish LP dan 2 ml asam sulfat pekat, jika

terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan, menunjukkan adanya ikatan gula.

Uji Non-gula

Filtrat diuapkan di atas penangas air, sisa filtrat dilarutkan dengan 5 tetes asam asetat anhidrat, ditambahkan 10 tetes asam sulfat pekat, jika terbentuk warna biru hijau, menunjukkan adanya glikosida (reaksi Liebermann Burchard)

d. Pengujian golongan terpenoid /steroid

Ekstrak diambil sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Liebermann-Bouchard. Apabila terbentuk warna biru ungu/biru hijau menunjukkan adanya terpenoid/steroid.

Pengujian dengan CeSO_4 dilakukan dengan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) dengan cara ekstrak sampel diteteskan ke plat TLC kemudian disemprot dengan pereaksi CeSO_4 dan dipanaskan di atas *hot plate*. Perubahan warna yang terjadi di plat diamati dan dibandingkan dengan standar triterpenoid dan β -sitosterol yang terbentuk.

e. Pengujian golongan saponin

Setelah 24 jam ampas dari proses maserasi diambil dengan spatula sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml akuades. Tabung reaksi dikocok hingga muncul buih. Ekstrak diberi 1 tetes HCl 2 N, bila buih terbentuk \pm 10 menit maka terdapat senyawa saponin.

Uji Toksisitas Biji Teratai

Pengujian ini dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Kista *A. salina* ditetaskan dalam bejana yang sudah berisi air dengan salinitas 83 ppt dan dilengkapi dengan alat aerasi. Selanjutnya dibiarkan selama 48 jam hingga kista menetas dan tumbuh dewasa (naupli).

Larutan induk ekstrak biji teratai untuk setiap uji dibuat dengan melarutkan 20 mg dalam 2 ml pelarut DMSO. Larutan uji 1000 ppm dibuat dengan memipet larutan induk sebanyak 500 μ l, sedangkan larutan uji 100 ppm dengan memipet 50 μ l dan 10 ppm dibuat 5 μ l dari larutan induk. Masing-masing larutan uji dimasukkan ke dalam vial dan ditambahkan air dengan salinitas 83 ppt (250 gram garam laut + 3 liter akuades) hingga volumenya 5000 μ l. Sebanyak 10 ekor larva udang *A. salina* dimasukkan ke dalam vial. Masing-masing konsentrasi dibuat ulang sebanyak 5 kali (5 vial) dan 1 vial untuk kontrol. Kematian *A. salina* diamati setelah 24 jam. Proses pengujian toksisitas *A. salina* dapat dilihat pada Lampiran 3.

Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Konsentrasi yang akan digunakan yaitu 0% (Kontrol negatif); 50%; 60%; 70%; 80%; dibuat dengan cara menimbang ekstrak biji teratai sebanyak 0,8 gram dan dilarutkan dalam 1 ml larutan DMSO. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 50%; 60%; 70% (Lampiran 4). Uji antibiotik (kontrol positif) untuk jamur menggunakan disk nistatin 20,6 μ g dan bakteri disk kloramfenikol 10 μ g.

Penyiapan Bakteri dan Jamur Uji

Pembuatan media tumbuh bakteri dan jamur dapat dilihat pada Lampiran 5. Bakteri *Aeromonas hydrophila* diinokulasi ke media TSA dan *Streptococcus agalactiae* ke media BHIA sedangkan jamur *Saprolegnia* sp. diinokulasikan ke media PDA. Analisis bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan jamur *Saprolegnia* sp. (Lampiran 6, Lampiran 7 dan Lampiran 8). Inokulum selanjutnya diinkubasi pada suhu 28-35⁰C selama 24 jam untuk bakteri *Aeromonas hydrophila*, 48 jam untuk bakteri *Streptococcus agalactiae* dan 7 hari untuk jamur *Saprolegnia* sp. Stok kultur bakteri yang ada diambil biakannya dengan jarum ose steril dan suspensikan ke dalam tabung yang berisi 3 ml larutan NaCl fisiologis 0,9%. Kemudian dihomogenkan dengan *vortex* hingga diperoleh kekeruhan suspensi sebanding dengan kekeruhan larutan Mc Farland sama dengan $0,5 \times 10^8$ CFU/ml. Pembuatan larutan Mc Farland dapat dilihat pada Lampiran 9. Jamur dipotong 0,5 x 0,5 cm dengan menggunakan pisau steril kemudian diletakkan ke media PDA baru.

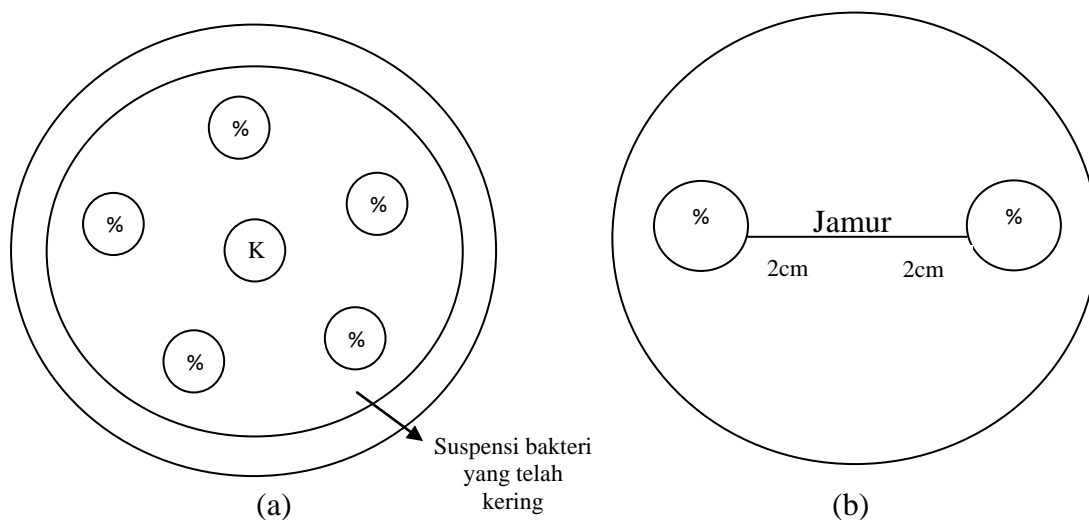
Pengujian Ekstrak Biji Teratai Terhadap Bakteri dan Jamur

Pengujian ekstrak biji teratai dilakukan dengan metode difusi disk menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm. Cakram dimasukkan ke dalam botol vial yang telah berisi larutan ekstrak dengan konsentrasi 50%; 60%; 70%; 80%, ditunggu \pm 1 jam hingga larutan ekstrak meresap ke dalam cakram.

Sebanyak 10 ml PDA, TSA dan BHIA masing-masing dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat. Pada suspensi bakteri dicelupkan lidi kapas steril dan diusapkan perlahan-lahan pada permukaan media secara merata dan ditunggu hingga mengering pada suhu kamar. Cakram yang telah

ditetesi ekstrak dengan konsentrasi berbeda dan antibiotik diletakkan secara teratur pada permukaan media uji dengan menggunakan pinset steril (Gambar 6a).

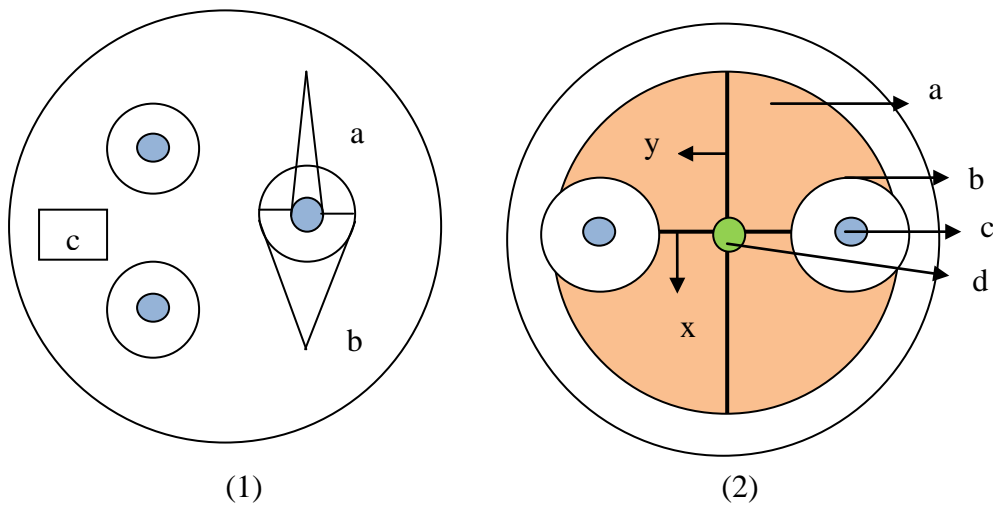
Pada media tumbuh jamur yang berumur 2 hari diletakkan cakram yang telah ditetesi ekstrak dengan konsentrasi berbeda dan antibiotik secara teratur dengan menggunakan pinset steril dan diinkubasi selama 7 hari (Gambar 6b). Proses pengujian mikroba dapat dilihat pada Lampiran 10.



Gambar 6. Pola Media Uji; a. Bakteri, b. Jamur

Pengamatan Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri dan Jamur

Pengamatan untuk bakteri dilakukan setelah masa inkubasi yaitu dengan melihat adanya zona hambatan (daerah bening) di sekitar cakram. Diameter zona hambatan diukur dengan jangka sorong. Diameter zona hambatan diukur dengan mengurangkan diameter zona hambatan (b) dengan diameter kertas cakram (a) (Gambar 7).



Gambar 7. Perhitungan zona hambat; (1) bakteri a: diameter cakram, b: diameter daerah yang tidak ditumbuhi bakteri, c: Daerah yang ditumbuhi bakteri. (2) jamur a: koloni jamur, b: zona hambat, c: cakram, d: titik tengah jamur, x: diameter koloni jamur yang terhambat pertumbuhannya, y: diameter koloni jamur normal.

Pengamatan untuk jamur dilakukan selama 7 hari masa inkubasi yaitu dengan cara mengukur batas akhir pertumbuhan dari jamur pada sumbu x dan batas akhir pertumbuhan jamur normal pada sumbu y, kemudian mengurangkan

$$\frac{y-x}{2} \text{ (Suryanto dkk., 2011)}$$

Analisis Data

Pengujian Fitokimia

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa kimia yang terdapat di dalam biji teratai. Pengamatan dilakukan langsung setelah pemberian bahan-bahan sesuai dengan senyawa fitokimia yang akan diuji.

Pengujian *Brine Shrimp*

Perlakuan yang diberikan yaitu P₀ 0% (kontrol), P₁ 10 ppm, P₂ 100 ppm dan P₃ 1000 ppm. Perlakuan dilakukan sebanyak 5 kali ulangan untuk setiap konsentrasi. Pengamatan *A. salina* dilakukan setelah 24 jam. Analisis data menggunakan analisis probit untuk menentukan LC₅₀.

Pengujian Daya Antimikroba

Perlakuan yang diberikan yaitu ekstrak biji teratai yang berbeda yaitu perlakuan P₀ 0% (DMSO), P₁ 50%, P₂ 60%, P₃ 70%, P₄ 80% dan P₅ antibiotik untuk uji antimikroba. Perlakuan dilakukan sebanyak 5 kali ulangan untuk setiap konsentrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Ekstraksi Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* L.)

Ekstraksi biji teratai dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Hasil ekstraksi biji teratai dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil ekstraksi pekat biji teratai

	n-heksana (gram)	etil asetat (gram)	metanol (gram)
Ekstrak pekat	5,5969	4,1706	10,1379
Warna	Kuning	Hijau kekuningan	Merah bata

Uji Fitokimia Biji Teratai

Ekstrak metanol mengandung senyawa alkaloid, fenolik, glikosida, saponin dan terpenoid/steroid. Ekstrak etil asetat mengandung senyawa alkaloid, glikosida dan terpenoid/steroid. Ekstrak n-heksana mengandung senyawa terpenoid/steroid. Hasil pengujian fitokimia biji teratai dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji fitokimia masing-masing ekstrak biji teratai

Golongan Senyawa	Pereaksi	Ekstrak n-heksana	Ekstrak etil asetat	Ekstrak metanol
Alkaloid	Bouchardat	-	-	-
	Dragendorff	-	+	+
	Mayer	-	+	+
	Wagner	-	-	-
Fenolik	FeCl ₃	-	-	+
Glikosida	Fehling	-	+	+
	Molish	-	+	+
	Liebermann-Bourchard	-	+	+
Saponin	Akuades-HCl	-	-	+
Terpenoid/steroid	Liebermann-Bourchard	+	+	+
	Cerium sulfaft (CeSO ₄)			
	Triterpenoid β-sitosterol	+	+	+

Uji Toksisitas Biji Teratai

Hasil pengujian ekstrak biji teratai terhadap larva *A. salina* menunjukkan bahwa ekstrak biji teratai bersifat toksik dengan kisaran LC_{50} antara 250-500 μ g/ml dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil pengamatan LC_{50} dengan metode BSLT

Pelarut	Konsentrasi (ppm)	Total Populasi	Jumlah Kematian	LC_{50} (ppm)
n-heksana	0	50	3	257,709
	10	50	15	
	100	50	21	
	1000	50	26	
etil asetat	0	50	3	495,675
	10	50	15	
	100	50	24	
	1000	50	23	
metanol	0	50	3	495,675
	10	50	15	
	100	50	21	
	1000	50	24	

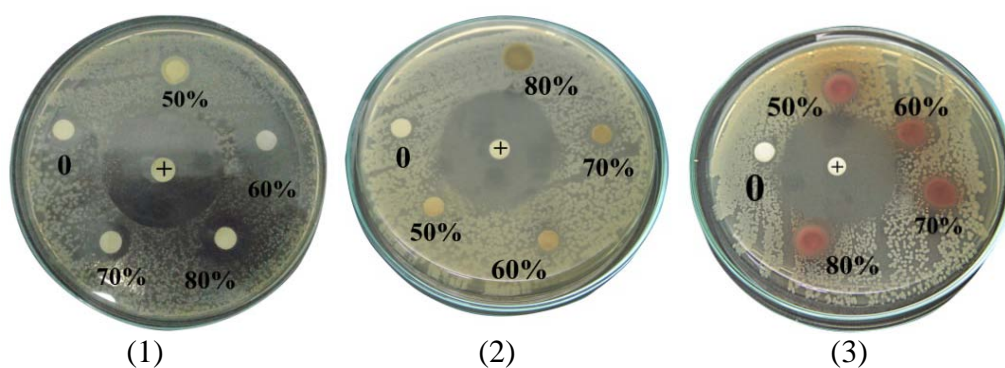
Uji Antimikroba Ekstrak Biji Teratai Terhadap Mikroba

Ekstrak biji teratai menunjukkan adanya zona hambat pada ketiga mikroba uji. Zona hambat terlihat pada bakteri *A. hydrophila* setelah pengamatan 24 jam hanya pada pelarut n-heksana. Zona hambat yang terlihat pada bakteri *S. agalactiae* setelah pengamatan 48 jam terdapat pada setiap pelarut. Zona hambat yang terlihat pada jamur *Saprolegnia* sp. Selama pengamatan 5 hari terdapat pada setiap pelarut. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 5.

Table 5. Hasil pengamatan antimikroba dengan metode difusi

Mikroba	Konsentrasi	Diameter Zona Hambat (mm)		
		n-heksana	etil asetat	metanol
<i>A. hydrophila</i>	0	0	0	0
	50	4,62	0	0
	60	3,46	0	0
	70	2,52	1,90	0
	80	5,74	4,40	0
	Kloramfenikol (10 µg)	33,3	33,00	32,70
<i>S. agalactiae</i>	0	0	0	0
	50	15,04	6,78	5,04
	60	15,06	8,04	4,16
	70	15,24	7,98	7,72
	80	16,06	8,28	7,82
	Kloramfenikol (10 µg)	43,02	45,80	45,80
<i>Saprolegnia</i> sp.	0	0	0	0
	50	8,00	5,80	8,80
	60	6,20	6,00	9,20
	70	9,80	9,60	9,60
	80	8,60	9,00	10,60
	Nistatin (20,6 µg)	11,46	12,50	10,96

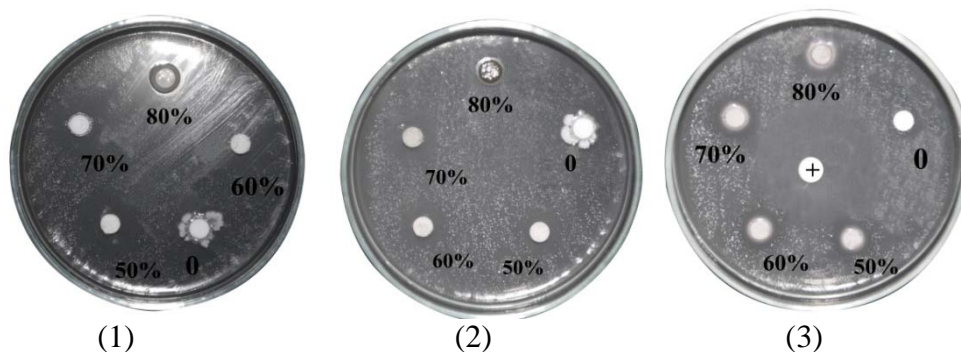
Hasil pengujian ekstrak biji teratai terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* menunjukkan adanya zona hambat pada ekstrak n-heksana. Besarnya zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak terlihat dengan adanya zona hambat di sekitar cakram (Gambar 8).



Gambar 8. Zona hambat ekstrak biji teratai dengan pelarut (1) n-heksana (2) etil asetat (3) metanol terhadap pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*

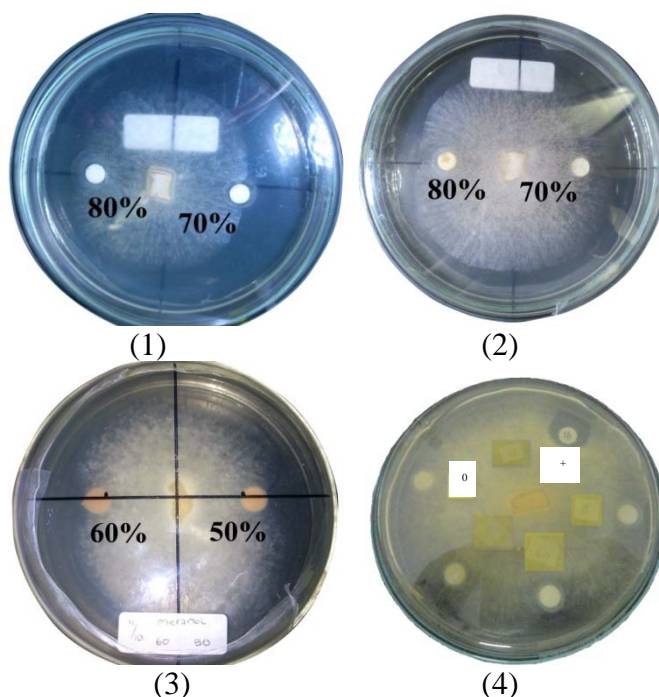
Hasil pengujian ekstrak biji teratai terhadap pertumbuhan bakteri *S. agalactiae* menunjukkan adanya zona hambat pada setiap ekstrak. Besarnya

zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak terlihat dengan adanya zona hambat di sekitar cakram (Gambar 9).



Gambar 9. Zona hambat ekstrak biji teratai dengan pelarut (1) n-heksana (2) etil asetat (3) metanol terhadap pertumbuhan bakteri *S. agalactiae*

Hasil pengujian ekstrak biji teratai terhadap pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. menunjukkan adanya zona hambat pada setiap ekstrak. Besarnya zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak terlihat dengan terhambatnya pertumbuhan jamur (Gambar 10).



Gambar 10. Zona hambat ekstrak biji teratai dengan pelarut (1) n-heksana (2) etil asetat (3) metanol terhadap pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp. (4) kontrol positif dan negatif

Pembahasan

Ekstraksi Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* L.)

Ekstraksi biji teratai dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol diperoleh secara berturut-turut adalah 5,5969 gram, 4,1706 gram dan 10,1379 gram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komponen-komponen senyawa yang terkandung pada biji teratai lebih banyak terekstrak atau larut pada pelarut yang bersifat polar. Menurut Sari (2008) pelarut metanol adalah pelarut yang dapat melarutkan seluruh kandungan kimia dari sampel yang bersifat polar maupun non polar, karena komponen-komponen tersebut saling terkait satu dengan lainnya melalui gugus fungsional sehingga komponen kimia yang ada pada sampel tanaman obat dapat tersari secara sempurna.

Uji Fitokimia Biji Teratai

Hasil uji fitokimia alkaloid menunjukkan hasil negatif pada ekstrak n-heksana. Ekstrak etil asetat dan metanol negatif pada pereaksi Bouchardat dan Wagner serta positif pada pereaksi Mayer dan Dragendroff ditandai dengan adanya endapan putih seperti yang terlihat pada Lampiran 11. Menurut Inayah dkk. (2012) endapan putih yang terbentuk diduga adalah kalium alkaloid. Pada pembuatan Pereaksi Dragendroff bismuth nitrat dilarutkan dalam HNO₃ pekat agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismuth mudah terhidrolisis. Menurut Harborne (1998) uji alkaloid dilakukan berdasarkan reaksi warna dengan pereaksi Dragendrof dan terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer, Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat sampai kuning, diperkirakan endapan tersebut adalah kalium alkaloid.

Hasil uji fitokimia fenolik menunjukkan hasil negatif pada pelarut n-heksana dan etil asetat serta positif pada pelarut metanol ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi biru hitam setelah diberi FeCl_3 seperti yang terlihat pada Lampiran 10. Menurut Sukarja (1992) ciri khas fenolik adalah terbentuk warna biru atau biru ungu dengan besi (III) klorida. Warna yang terbentuk diduga berupa besi (III) heksa fenolat sehingga uji ini memberikan indikasi gugus OH aromatik.

Hasil uji fitokimia glikosida menunjukkan hasil negatif pada pelarut n-heksana. Hasil positif pada pelarut etil asetat dan metanol ditandai dengan adanya endapan merah ketika diberi pereaksi Fehling, terbentuk lapisan cincin ungu ketika diberi pereaksi Molisch dan berwarna ungu ketika diberi pereaksi Liebermann-Bouchard seperti terlihat pada Lampiran 11.

Hasil uji fitokimia saponin menunjukkan hasil negatif pada pelarut n-heksana dan etil asetat serta positif pada pelarut metanol ditandai dengan munculnya buih setelah diberi akuades kemudian dikocok dan diberi HCl 2 N 1 tetes selama ± 10 menit seperti yang terlihat pada Lampiran 11. Menurut Suparjo (2008) saponin merupakan metabolit sekunder yang mengandung gugus gula terutama glukosa, galaktosa, xylosa, rhamnosa atau methylpetosa yang berikatan dengan suatu aglikon hidrofobik (sapognin) berupa terpenoid, steroid alkaloid. Sehingga saponin bersifat polar dan dapat larut dalam air. Saponin juga bersifat non polar karena memiliki gugus hidrofob yaitu aglikon. Oleh karena itulah dapat terbentuk busa karena saponin terdispersi diantara senyawa polar dan non polar.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia biji teratai dari masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa setiap ekstrak mengandung steroid/terpenoid. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna biru kehijauan pada pereaksi Liebermann-Boucard. Pengujian menggunakan TLC menunjukkan hasil positif pada pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol ditandai dengan adanya perubahan warna yang sama antara sampel dengan triterpenoida dan β -sitosterol setelah dipanaskan di atas *hot plate* dapat dilihat pada Lampiran 11.

Uji Toksisitas Biji Teratai

Uji toksisitas dilakukan untuk mendukung hasil uji antimikroba pada ekstrak biji teratai. Metode yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan *A. salina*. Uji ini merupakan uji yang paling sederhana sebagai langkah awal untuk menentukan sifat toksisitas dari bahan alami.

Uji toksisitas dalam penelitian ini dilakukan dengan 10 ekor larva *A. salina* yang ditetaskan selama 48 jam. Larva *A. salina* dimasukkan ke dalam botol vial yang telah berisi ekstrak dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm dan ditambah air dengan kadar salinitas 83 ppt sampai 5 ml. Sebagai kontrol digunakan air dengan kadar salinitas 83 ppt tanpa pemberian ekstrak. Menurut Meyer dkk. (1982) kategori toksisitas suatu bahan berdasarkan nilai LC_{50} terbagi menjadi 3 kategori, yaitu sangat toksik bila $LC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$, toksik bila $LC_{50} 30\text{-}1000 \mu\text{g/ml}$ dan tidak toksik bila $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$. Data awal kematian *A. salina* pada berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Lampiran 12.

Pengujian ekstrak biji teratai dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol terhadap *A. salina* menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana memiliki

tingkat toksisitas lebih tinggi dengan nilai LC_{50} 257,709 $\mu\text{g/ml}$ dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan metanol dengan nilai LC_{50} keduanya 495,675 $\mu\text{g/ml}$. Menurut Lisdawati dkk. (2006) golongan metabolit sekunder alkaloid, terpenoid, saponin dan senyawa polifenol yang terdapat di dalam daun dan buah tanaman mahkota dewa memiliki aktivitas antikanker. Data hasil perhitungan LC_{50} dapat dilihat pada Lampiran 13.

Pengujian ekstrak biji teratai terhadap *A. salina* dengan pelarut n-heksana pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 30% dengan nilai probit 4,61, konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 42% dengan nilai probit 4,87 dan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 52% dengan nilai probit 5,13. Grafik Log konsentrasi ekstrak biji teratai dengan pelarut n-heksana dapat dilihat pada Lampiran 13. Aktivitas sitotoksik yang dimiliki ekstrak n-heksana dari beberapa tanaman seperti tanaman srikaya (*Annona squamosa*) yang memiliki LC_{50} sebesar 0,587 $\mu\text{g/ml}$ (Tripihana dkk., 2013), ekstrak n-heksana tumbuhan akar PKI (*Mikania micrantha*) yang memiliki LC_{50} sebesar 2,19 $\mu\text{g/ml}$ (Susanti dkk., 2011), ekstrak n-heksana rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Rosc) yang memiliki LC_{50} sebesar 33,10 $\mu\text{g/ml}$ (Widorini dkk., 2002) dan ekstrak n-heksana kulit batang kecapi (*Sandoricum koetjape* Merr) yang memiliki LC_{50} sebesar 32,44 $\mu\text{g/ml}$ (Utama dkk., 2013).

Pengujian ekstrak biji teratai terhadap *A. salina* dengan pelarut etil asetat pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 30% dengan nilai probit 4,61, konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 48% dengan nilai probit 4,87 dan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 46% dengan nilai probit 4,87. Grafik Log konsentrasi ekstrak biji teratai dengan pelarut etil asetat dapat dilihat pada

Lampiran 13. Aktivitas sitotoksik yang dimiliki ekstrak n-heksana dari beberapa tanaman seperti daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) yang memiliki LC_{50} sebesar 288,4 $\mu\text{g/ml}$ (Sukandar dkk., 2008), ekstrak etil asetat tumbuhan akar PKI (*Mikania micrantha*) yang memiliki LC_{50} sebesar 13,49 $\mu\text{g/ml}$ (Susanti dkk., 2011), ekstrak etil asetat tumbuhan paku (*Christella arida*) yang memiliki LC_{50} sebesar 13,301 $\mu\text{g/ml}$ (Aprealia and Suyatno, 2013) dan ekstrak etil asetat kulit batang kecapi (*Sandoricum koetjape* Merr) yang memiliki LC_{50} sebesar 179,43 $\mu\text{g/ml}$ (Utama dkk., 2013).

Pengujian ekstrak biji teratai terhadap *A. salina* dengan pelarut metanol pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 30% dengan nilai probit 4,61, konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 46% dengan nilai probit 4,87 dan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ tingkat kematian 48% dengan nilai probit 4,87. Grafik Log konsentrasi ekstrak biji teratai dengan pelarut etil asetat dapat dilihat pada Lampiran 13. Aktivitas sitotoksik yang dimiliki ekstrak n-heksana dari beberapa tanaman seperti tanaman srikaya (*Annona squamosa*) yang memiliki LC_{50} sebesar 0,857 $\mu\text{g/ml}$ (Tripihana dkk., 2013), ekstrak metanol tumbuhan akar PKI (*Mikania micrantha*) yang memiliki LC_{50} sebesar 2,19 $\mu\text{g/ml}$ (Susanti, 2011) dan ekstrak metanol daging buah pare (*Momordica charantia* L.) yang memiliki LC_{50} sebesar 74,99 $\mu\text{g/ml}$ (Bawa, 2009).

Hasil penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin besar jumlah *A. salina* yang mati. Kematian larva *A. salina* terbesar terdapat pada ekstrak n-heksana konsentrasi 1000 ppm yang menyebabkan kematian larva 52% sedangkan ekstrak etil asetat pada konsentrasi

yang sama menyebabkan kematian larva 46% dan ekstrak metanol menyebabkan kematian larva 48%.

Kematian larva disebabkan oleh senyawa-senyawa yang terkandung di dalam ekstrak biji teratai yang dapat mengganggu proses pencernaan *A. salina*, Cahyadi (2009) menyatakan cara kerja senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Ekstrak yang dihasilkan dengan pelarut n-heksana mengandung senyawa non polar yang mudah untuk masuk ke dalam membran sel melalui proses difusi yang menyebabkan sel lebih cepat mengalami kerusakan atau mati. Ekstrak yang dihasilkan dengan pelarut etil asetat dan metanol mengandung senyawa semi polar dan polar. Senyawa semi polar dan polar tidak mudah berdifusi memasuki dinding sel atau membran, hal ini mengakibatkan senyawa semi polar dan polar lebih sulit untuk masuk ke dalam dinding sel sehingga nilai ketoksikan senyawa semi polar dan polar lebih rendah.

Menurut Mukti dkk (2012), proses difusi pada sel terjadi akibat kecenderungan dari substansi yang bergerak dari daerah dengan konsentrasi tinggi ke daerah dengan konsentrasi yang rendah. Pelarut non polar hanya dapat melarutkan senyawa-senyawa non polar sehingga pelarut semi polar tidak dapat bercampur dengan pelarut non polar di dalam fosfolipid bilayer. Pelarut molekul

semi polar tidak dapat memasuki membran sel lipid tanpa bantuan dari protein pembawa (*carrier*). Tidak semua molekul dapat memasuki membran fosfolipid termasuk gradient elektrokimia dan ukurannya. Molekul yang lebih kecil pada non polar dapat dengan mudah masuk ke dalam fosfolipid bilayer lewat proses difusi karena kesamaan polaritasnya sedangkan pelarut semi polar tidak dapat masuk ke dalam membran plasma hanya dengan proses difusi melainkan dengan proses endositosis, difusi difasilitasi dan transport aktif.

Uji Antimikroba Ekstrak Biji Teratai Terhadap Mikroba

Pada pengujian aktivitas antibakteri digunakan bakteri gram negatif *Aeromonas hydrophila*, bakteri gram positif *Streptococcus agalactiae* dan jamur *Saprolegnia* sp. Penggunaan mikroba ini bertujuan untuk mengetahui spektrum dari senyawa antimikroba yang terdapat ekstrak biji teratai. Senyawa antimikroba dikatakan berspektrum luas apabila dapat menghambat pertumbuhan seluruh mikroba uji, berspektrum sempit apabila hanya menghambat pertumbuhan dari salah satu mikroba uji tersebut. Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak biji teratai berspektrum luas karena mampu menghambat pertumbuhan seluruh mikroba uji. Meskipun demikian pengujian pada bakteri menunjukkan bahwa ekstrak lebih menghambat pada bakteri *Streptococcus agalactiae* daripada *Aeromonas hydrophila* dan *Saprolegnia* sp.

Metode difusi dilakukan dengan meletakkan kertas cakram yang telah diberi ekstrak dengan konsentrasi tertentu di atas media yang telah ditanami mikroba uji, adanya daerah bening disekitar cakram menunjukkan adanya zona hambat (Pratiwi, 2008). Hasil pengujian 3 ekstrak biji teratai menunjukkan hasil yang bervariasi. Ekstrak n-heksana memberikan penghambatan terbesar terhadap

mikroba uji. Data awal zona hambat untuk setiap mikroba uji dengan berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Lampiran 14.

Pengujian aktivitas ekstrak n-heksana menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan terbesar terdapat pada bakteri *S. agalactiae* sebesar 16,06 mm pada konsentrasi 80%, kemudian jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 9,8 mm pada konsentrasi 70% dan bakteri *A. hydrophila* sebesar 5,74 mm pada konsentrasi 80%. Kemampuan ekstrak n-heksana biji teratai dalam menghambat pertumbuhan mikroba mungkin disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak tersebut. Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan diketahui bahwa ekstrak n-heksana biji teratai mengandung steroid/terpenoid (Tabel 3). Menurut Harborne (1998) terpenoid dapat menyebabkan terjadinya lisis pada bakteri dengan mengikat protein, lipid dan atau karbohidrat yang terdapat pada membran sel.

Pengujian aktivitas ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan terbesar terdapat pada bakteri *S. agalactiae* sebesar 8,28 mm pada konsentrasi 80%, kemudian jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 9,6 mm pada konsentrasi 70% dan bakteri *A. hydrophila* sebesar 0,88 mm pada konsentrasi 80%. Kemampuan ekstrak etil asetat biji teratai dalam menghambat pertumbuhan mikroba mungkin disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak tersebut. Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan diketahui bahwa ekstrak etil asetat biji teratai mengandung alkaloid, glikosida dan steroid/terpenoid (Tabel 3).

Menurut Juliantina dkk. (2008) alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak

terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu menurut Harborne (1998) menyatakan ketersediaan alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga dapat mengakibatkan sel bakteri menjadi lisis.

Pengujian aktivitas ekstrak metanol menunjukkan bahwa hambatan pertumbuhan terbesar terdapat pada jamur *Saprolegnia* sp. sebesar 10 mm pada konsentrasi 80%, kemudian bakteri *S. agalactiae* sebesar 7,82 mm pada konsentrasi 80% dan tidak memberi pengaruh pada bakteri *A. hydrophila*. Kemampuan ekstrak metanol biji teratai dalam menghambat pertumbuhan mikroba mungkin disebabkan oleh senyawa yang terkandung pada ekstrak tersebut. Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan diketahui bahwa ekstrak metanol biji teratai mengandung alkaloid, fenolik, glikosida, saponin dan steroid/terpenoid (Tabel 3).

Golongan fenol diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang bersifat bakterisidal namun tidak bersifat sporisidal dengan mendenaturasi protein dan merusak membran sel bakteri serta aktif pada pH asam. Golongan ini juga merusak lipid pada membran plasma mikroorganisme sehingga menyebabkan isi sel keluar (Pratiwi, 2008).

Menurut Susanti (2008), fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Dimana sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, yang akan

berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel, sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya dan terjadi lisis.

Menurut Ayuningtyas (2008) saponin merupakan senyawa yang diduga sebagai senyawa antibakteri karena memiliki kemampuan dalam menghambat fungsi membran sel sehingga merusak permeabilitas membran yang mengakibatkan dinding sel rusak atau hancur.

Davis dan Stout (1971) mengemukakan bahwa ketentuan antibakteri adalah sebagai berikut daerah hambatan sebesar 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm kuat, daerah hambatan 5-10 mm sedang dan kurang dari 5 mm lemah. Diameter zona hambat dari pengujian ketiga ekstrak biji teratai menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana mempunyai daya antimikroba yang kuat, ekstrak metanol mempunyai daya antimikroba sedang dan ekstrak etil asetat mempunyai daya antimikroba yang lemah.

Menurut Lutfiyanti dkk. (2012) terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur. Senyawa-senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur. Ismaini (2011) mengungkapkan bahwa senyawa triterpenoid ikut berperan dalam menghasilkan zona hambat karena sifat toksik yang dimiliki oleh senyawa triterpenoid dalam ekstrak tersebut, sehingga ketika senyawa aktif terserap oleh jamur patogen dapat menimbulkan kerusakan pada organel-organel sel, menghambat kerja enzim di dalam sel, dan pada akhirnya akan terjadi penghambatan pertumbuhan jamur patogen.

Ekstrak metanol dan etil asetat mengandung senyawa antimikroba yang lebih banyak dibandingkan dengan n-heksana tetapi zona hambat yang dihasilkan n-heksana lebih besar dibandingkan kedua pelarut tersebut. Menurut Marliani dkk. (2011) zona hambat yang dihasilkan metanol lebih lemah mungkin disebabkan karena adanya kerja yang tidak sinergis antara senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol dalam peranannya sebagai antimikroba. Penelitian Ricki (2011) dari ekstrak kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap bakteri *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Streptococcus mutan* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh bahwa ekstrak n-heksana memiliki zona hambat bakteri yang paling kuat sebesar 5,415 mm daripada ekstrak etil asetat sebesar 1,25 mm dan metanol sebesar 0,88 mm.

Hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan bahwa diameter zona hambat bakteri *S. agalactiae* yang merupakan bakteri gram positif lebih besar bila dibandingkan dengan bakteri *A. hydrophila* dan jamur *Saprolegnia* sp. Penelitian yang dilakukan Marliani (2011) dari ekstrak buah labu air (*Lagenari siceraria* (Molina) Standl) terhadap bakteri gram positif *Bacillus cereus* lebih kuat sebesar 9,0023 mm dibandingkan bakteri gram negatif *Salmonellatyphi* sebesar 7,7403 mm.

Dinding sel bakteri gram positif terdiri atas peptidoglikan yang sangat tebal yang memberikan kekakuan untuk mempertahankan keutuhan sel. Proses perakitan dinding sel bakteri diawali dengan pembentukan rantai peptida yang akan membentuk jembatan silang peptida yang menggabungkan rantai glikan dari peptidoglikan pada rantai yang lain sehingga menyebabkan dinding sel terakit sempurna. Jika ada kerusakan pada dinding sel atau ada hambatan dalam

pembentukannya dapat terjadi lisis pada sel bakteri sehingga bakteri segera kehilangan kemampuan membentuk koloni dan diikuti dengan kematian sel bakteri.

Pelczar dan Chan (2005) mengatakan bahwa bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida.

Mawaddah (2008) juga menjelaskan adanya perbedaan sensitifitas terhadap antibakteri dapat disebabkan oleh perbedaan susunan dinding sel. Dinding sel bakteri gram positif 90% terdiri atas lapisan peptidoglikan, selebihnya adalah asam teikoat dan memiliki struktur lapis tunggal, sedangkan bakteri gram negatif komponen dinding selnya mengandung 20-50% peptidoglikan, selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida dan lipoprotein serta memiliki struktur multilapis (*multilayer*). Selain itu, bakteri dalam bentuk sel vegetatif juga lebih rentan terhadap aktivitas antimikroba dalam rempah-rempah dibandingkan dalam bentuk spora.

Pengujian kontrol negatif dengan perendaman cakram dengan pelarut DMSO tidak menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan. DMSO merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Cairan ini tidak berwarna merupakan pelarut senyawa polar dan non polar dan larut dalam berbagai pelarut organik maupun air. Menurut Widowati dan Harfia

(2009) DMSO merupakan pelarut yang dapat digunakan untuk melarutkan sebagian ekstrak yang tidak dapat larut dalam air dan pada konsentrasi di bawah 3% biasanya DMSO tidak toksik kepada sel.

Pengujian antibakteri digunakan kloramfenikol sebagai kontrol positif dimana menunjukkan aktivitas penghambatan yang sangat besar pada *S. agalactiae* sebesar 45,8 mm dan *A. hydrophila* sebesar 33 mm. Kloramfenikol merupakan metabolit sekunder dari *Streptomyces venezuellae* yang berukuran relatif kecil sehingga mudah berdifusi ke dalam tubuh (Pratiwi, 2008). Menurut Wattimena dkk. (1998) kloramfenikol bekerja menghambat sintesis protein bakteri dan juga sel eukariot. Antibiotik ini berpenetrasi mudah ke dalam sel bakteri, kemungkinan dengan proses difusi terfasilitasi. Antibiotik ini mengikat secara reversible unit ribosom 50 S yang akan mencengah ikatan antara asam amino yang mengandung ujung dari aminoasil t-RNA.

Pada pengujian antijamur digunakan nistatin untuk kontrol positif pada jamur *Saprolegnia* sp. yang menunjukkan aktivitas penghambatan sebesar 12,5 mm. nistatin merupakan antibiotik yang dihasilkan dari *Strptomyces noursei*, dimana aktivitasnya tergantung pada ikatan nistatin dengan bagian sterol yang spesifik, khususnya ergosterol yang terdapat pada membran fungi. Nistatin membentuk suatu pori melalui pembentukan kompleksnya dengan sterol-sterol dari membran sel, dimana melalui pori ini molekul-molekul kecil dari sel dapat keluar. Hal ini menyebabkan kerusakan sel Wattimena dkk. (1998). Menurut Pratiwi (2008) nistatin memiliki struktur lingkaran yang besar disebabkan adanya sejumlah ikatan ganda dan sering disebut sebagai antibiotik polien. Antibiotik ini bergabung dengan ergostretol yang terdapat pada membran sel fungi dengan

menimbulkan gangguan dari kebocoran sitoplasma. Pelczar dan Chan (2005) mengemukakan cara kerja nistatin adalah merusak sel-sel khamir, juga sel cendawan lain, dengan cara bergabung dengan sterol yang terdapat dalam membran sel. Hal ini mengakibatkan kacaunya organisasi di dalam struktur molekuler membran, diikuti dengan gangguan pada fungsinya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Hasil uji fitokimia ekstrak biji teratai (*Nymphaea pubescens* L.) dengan pelarut metanol mengandung senyawa alkaloid, fenolik, glikosida, saponin dan terpenoid/steroid, pelarut etil asetat mengandung senyawa alkaloid, glikosida dan terpenoid/steroid dan pelarut n-heksana mengandung senyawa terpenoid/steroid.
2. Ekstrak biji teratai memiliki aktivitas antimikroba yang bervariasi dan ekstrak biji teratai dengan pelarut n-heksana merupakan pelarut yang paling efektif.
3. Ekstrak biji teratai bersifat toksik dengan pelarut n-heksana memiliki nilai LC_{50} 257,709 $\mu\text{g/ml}$, etil asetat dan metanol memiliki nilai LC_{50} 495,656 $\mu\text{g/ml}$ yang lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Saran

Sebaiknya dilakukan pengujian lebih lanjut secara *In vivo* dengan langsung menguji terhadap ikan untuk lebih mengetahui ekstrak biji teratai dapat dijadikan sebagai obat alami.