IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina Leach*) EKSTRAK BEKATUL MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI

SKRIPSI

Oleh:
DEWI WARDATUL JANNAH
NIM. 13630071

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina Leach*) EKSTRAK BEKATUL MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI

SKRIPSI

Oleh:
DEWI WARDATUL JANNAH
NIM. 13630071

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

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina Leach*) EKSTRAK BEKATUL MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI

SKRIPSI

Oleh:
DEWI WARDATUL JANNAH
NIM. 13630071

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 23 April 2020

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P	Dr. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19750410 200501 2 009	NIP.19731212 199803 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina Leach*) EKSTRAK BEKATUL MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI

SKRIPSI

Oleh:
DEWI WARDATUL JANNAH
NIM. 13630071

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 23 April 2020

Penguji Utama	**: Dr. Anton Prasetyo, M.Si** **NIP. 19770925 200604 1 003**	**(.....)**
Ketua Penguji	**: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P** **NIP. 19750410 200501 2 009**	**(.....)**
Sekretaris Penguji	**: Anik Maunatin, S.T., M.P** **NIDT.19760105 20180201 2 248**	**(.....)**
Anggota Penguji	**: Dr, Ahmad Barizi, M.A** **NIP.19731212 199803 1 001**	**(.....)**

Mengetahui,
Ketua Jurusan

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dewi Wardatul Jannah

NIM : 13630071

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : "Identifikasi dan Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina Leach*) Ekstrak Bekatul Menggunakan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi"

menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 23 April 2020
Yang membuat pernyataan,

Dewi Wardatul Jannah
NIM.13630071

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahrobbil'aalamiin

Dengan senantiasa memanjatkan puja dan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas rahmat, hidayah dan ridhonya sehingga bisa terselesaikan karya sederhana ini. Tak lupa sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan nabi besar Muhammad SAW.

...

Saya persembahkan karya sederhana ini kepada segenap orang-orang yang kusayangi sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terimakasih.

Kepada kedua orang tua saya (Ayah Akhmad Fauzi, S.H dan Ibu Masrifah) yang selama ini telah memberikan segala bentuk dukungan, doa, motivasi, nasehat dan kasih sayang yang tidak tergantikan. Terima kasih untuk segalanya, mungkin kiranya tulisan ini hanya sebagian kecil hal yang bisa saya persembahkan untuk mereka, karena semua kebaikannya takkan bisa terbalas dengan apapun. Semoga Allah selalu melimpahkan kasih sayang-nya dan mengangkat derajat mereka disurga.... Aaamiiinnn....

...

Kepada Adik-adik saya (Wishol, Sophia, Habib dan Afwan) yang selalu menghibur dan menemani, memberikan dukungan dan semangat sehingga membuatku lebih tegar. Serta **keluarga besar Abu Yamin dan Bani Rasyidi** yang selalu memberikan dukungan, nasehat dan doa untuk bisa menyelesaikan kuliah dan skripsi ini. Semoga Allah membalas kebaikan mereka dan mendapat kedudukan dan derajat yang tinggi disurga-Nya.... Aaamiiinnn....

...

Kepada seluruh dosen, staf laboran, dan administrasi jurusan kimia yang selalu memberikan bimbingan, nasehat, pengalaman dan banyak ilmu yang sangat berarti dan bermanfaat baik dalam proses pembelajaran S-1 maupun dalam proses penelitian sehingga saya bisa memahami ilmu kimia dan agama dengan baik, serta terselesaikannya penelitian dan penulisan naskah ini dengan baik dan lancar.

Terutama **kepada Ibu Akyun selaku pembimbing penelitian, Ibu Anik selaku konsultan penelitian dan Bapak Naim selaku wali dosen**. Kiranya semoga kebaikan Bapak dan Ibu semuanya mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT.... Aaamiiinnn....

...

Kepada Penghuni Blue House (Robi', Ainur, Iik, Lili), Biokimia&Kuliner Squad (Mukhlis, Nende, Ayyuma, Izza, Nissak, Aan, Irfan, intan), Coffe Squad (Tutud, Ansori, Thoif, Rizki, Asrul, Reza, Mas Lutfi, Mas Imam, Mads Fahmi, Mas Fikri), Tim Evakuasi (Mbak Irma, Mas Agung, Mas wisnu, Mas trio, Mas Homsih, Mas Hafifi) Seluruh teman-teman Kimia Angkatan '13.

Terima kasih sudah hadir dan mengajariku arti kebersamaan, yang mengajarkan bahwa tidak ada yang susah jika kita lalui bersama. Terima kasih atas segala doa dan semangat dari kalian. Seorang sahabat yang terukir dalam hatiku sampai kapanpun sebagai penyemangat yang luar biasa. Semoga cita-cita kita semua bisa terwujud dan kita semua sukses dunia sampai akhirat.... Aaamiiinnn...

...

우리 푸얀는, 이 모든 시간을 항상지지하고기도하며 동반 해 주셔서 감사합니다. 우리 엑소 오빠들에게 김민석 오빠, 김준면 오빠, 레이 오빠, 변백현 오빠, 김종대 오빠, 박찬열 오빠, 도경수 오빠, 김종인 오빠, 오세훈 오빠 그리고 슈퍼주니어 조규현 오빠 너무 감사드립니다.

...

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahi rabbil 'alamin saya panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas segala karunia nikmat serta hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **"IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina Leach*) EKSTRAK BEKATUL MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT DAN LAMA EKSTRAKSI".** Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi kita semua. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak akan terwujud tanpa adanya bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua dirumah yang senantiasa memberikan doa restu dan dukungan dalam menuntut ilmu. Serta adik-adik yang selalu memberi semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P dan, ibu Anik Maunatin S.T, M.P selaku dosen pembimbing dan konsultan, karena atas bimbingan dan pengarahan yang diberikan, penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Seluruh Dosen pengajar kimia yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat bagi penulis.
5. Seluruh Laboran Jurusan Kimia yang telah membantu dalam proses penelitian.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

6. Seluruh Laboran Jurusan Kimia yang telah membantu dalam proses penelitian.
7. Penghuni Blue House yang ikut berpartisipasi dan selalu memberi semangat tiap harinya.
8. Jajaran pelatih, pengurus dan anggota UKM TAEKWONDO UIN MALANG yang selalu memberi semangat dalam penyusunan skripsi ini.
9. Teman–teman mahasiswa angkatan 2013 dan semua pihak yang telah membantu penulis dan memberikan dukungan dalam menyusun skripsi.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini baik dalam teknik penyajian materi maupun pembahasan. Demi kesempurnaan skripsi ini, saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini bermanfaat dan dapat menambah ilmu pengetahuan bagi para pembaca.

Malang, April 2020

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

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

BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan Penelitian 6
1.4 Batasan Masalah 6
1.5 Manfaat Penelitian 6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA **7**
2.1 Manfaat Laut dalam Perspektif Islam 7
2.2 Bekatul 9
2.3 Manfaat dan Kandungan Bekatul 10
2.4 Ekstraksi Metode Ultrasonik 11
2.5 Uji Toksisitas. 12
2.5.1 *brine shrimp Lethality test* (BSLT) 13
2.5.2 Larva Udang (*artemia salina Leach.)* 16
2.6 Komponen Senyawa Aktif 18
2.6.1 Alkaloid 29
2.6.2 Flavonoid 20
2.6.3 Triterpenoid 22
2.6.4 Steroid 23
2.6.5 Saponin 24
2.7 Kromatografi Lapis Tipis 25

BAB III METODE PENELITIAN **28**
3.1 Pelaksanaan Penelitian 28
3.2 Alat dan Bahan 28
3.2.1 Alat 28
3.2.2 Bahan 28
3.3 Rancangan Penelitian 29
3.4 Tahapan Penelitian 30
3.5 Prosedur Penelitian 30
3.5.1 Preparasi Sampel 30

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.2 Uji Kadar Air secara Termogravimetri. 30
3.5.3 Ekstraksi dengan Ultrasonik 31
3.5.4 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang 32
3.5.5 Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen 33
3.5.5.1 Uji Alkaloid 33
3.5.5.2 Uji Flavonoid 34
3.5.5.3 Uji Triterpenoid dan Steroid 34
3.5.5.4 Uji Saponin 34
3.5.5.5 Uji Tanin 35
3.6 Pemisahan Senyawa dengan KLT 35
3.7.1 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLTA 35
3.7.2 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLTP 36
3.7 Analisis Data 36

BAB IV PEMBAHASAN 39
4.1 Preparasi Sampel 39
4.2 Analisis Kadar Air 40
4.3 Ekstraksi Bekatul dengan Ultrasonik 41
4.4 Uji Toksisitas Menggunakan Larva Udang 43
4.4.1 Penetasan Larva Udang 43
4.4.2 Uji Toksisitas 43
4.5 Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Reagen 46
4.6 Pemisahan Senyawa Aktif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) 47
4.7 Pemisahan Golongan Senyawa Steroid dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) 50
4.8 Pemanfaatan Bekatul dalam perspektif Agama Islam 53

BAB V PENUTUP 56
5.1 Kesimpulan 56
5.2 Saran 56

DAFTAR PUSTAKA 57
LAMPIRAN 63

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian. 63
Lampiran 2 Skema Kerja 64
Lampiran 3 Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel Uji dan Reagen 70
Lampiran 4 Data dan Perhitungan Hasil Penelitian 78
Lampiran 5 Hasil Analisis Probit Menggunakan SPSS 20 83
Lampiran 6 Dokumen 88

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori toksisitas bahan 14
Tabel 3.1 Jenis eluen dan pendeteksi golongan senyawa aktif alkaloid flavonoid, triterpenoid dan steroid 37
Tabel 3.2 Jenis eluen dan pendeteksi golongan senyawa aktif saponin dan tanin 38
Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak bekatul 41
Tabel 4.3 Hasil pengamatan kematian larva udang 44
Tabel 4.4 Hasil uji toksisitas menggunakan metode BSLT 45
Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia reagen ekstrak bekatul 47
Tabel 4.5 Hasil identifikasi ekstraksi *n*-heksana dibawah lampu UV 366 nm dengan eluen *n*-heksana : etil asetat (8:2) 49
Table 4.6 Hasil kromatografi lapis tipis preparatif ekstrak *n*-heksana menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (8:2) 52
Tabel L4.1.1 Hasil rendemen ekstrak etanol 78
Tabel L4.1.2 Hasil rendemen ekstrak etil asetat 78
Tabel L4.1.3 Hasil rendemen ekstrak *n*-heksana 78
Tabel L4.2.1 Perhitungan kadar air 79
Tabel L4.3.1 Data uji toksisitas ekstrak etanol 79
Tabel L4.3.2 Data uji toksisitas ekstrak etil asetat 79
Tabel L4.3.3 Data uji toksisitas ekstrak *n*-heksana 80
Tabel L5.1 E1 20 83
Tabel L5.2 E1 25 83
Tabel L5.3 E1 30 84
Tabel L5.4 E2 20 84
Tabel L5.5 E2 25 85
Tabel L5.6 E2 30 85
Tabel L5.7 E3 20 86
Tabel L5.8 E3 25 86
Tabel L5.9 E3 30 87

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 bagian biji bekatul. 9
Gambar 2.2 *Artemia salina Leach.* 17
Gambar 2.3 struktur alkaloid..... 19
Gambar 2.4 Perkiraan reaksi uji Wager 20
Gambar 2.5 Struktur inti senyawa flavonoid..... 20
Gambar 2.6 Reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl..... 21
Gambar 2.7 Struktur senyawa triterpenoid..... 22
Gambar 2.8 Struktur inti senyawa steroid 23
Gambar 2.9 Reaksi fukosterol dengan reagen Lieberman-Burchard 24
Gambar 2.10 Struktur inti senyawa saponin 25
Gambar 4.1 Sampel bekatul 40
Gambar 4.2 Hasil KLTA eluen *n*-heksana: etil asetat (8:2) 48
Gambar 4.3 Hasil KLTP ekstrak *n*-hekana 20 menit diidentifikasi dibawah sinar UV..... 50
Gambar 4.4 Hasil KLTP ekstrak *n*-hekana 25 menit diidentifikasi dibawah sinar UV..... 50
Gambar 4.5 Hasil KLTP ekstrak *n*-hekana 30 menit diidentifikasi dibawah sinar UV..... 51
Gambar L6.1 Proses ekstraksi ultrasonik. 88
Gambar L6.2 Hasil ekstrak pekat. 88
Gambar L6.3 Pertumbuhan larva udang. 89
Gambar L6.4 Uji steroid ekstrak etanol..... 89
Gambar L6.5 Uji steroid ekstrak etil Aseta. 89
Gambar L6.6 Uji steroid ekstrak *n*-heksana 89
Gambar L6.7 Uji triterpenoid ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksana..... 90
Gambar L6.8 Hasil KLTA identifikasi dibawah Sinar UV. 90
Gambra L6.9 Hasil KLTP..... 91

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRAK

Jannah, Dewi.W. 2020. **Identifikasi dan Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina Leach*) Ekstrak Bekatul Menggunakan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi**. Pembimbing I, Akyunul Jannah, S.Si. M.P. Pembimbing II, Dr. H. Ahmad Barizi, M.A. Konsultan, Anik Maunatin, S.T, M.P

Bekatul memiliki nutrisi yang baik dan komponen bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid dan lain-lain sehingga sangat bermanfaat. Beberapa komponen bioaktif tersebut memiliki potensi toksik. Tujuan dari penelitian untuk mengetahui nilai toksisitas ekstrak kasar bekatul, dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan diketahui senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak. Bekatul diekstrak menggunakan metode ultrasonik bath menggunaka variasi pelarut etanol 96%, etil asetat dan *n*-heksana dengan variasi lama ekstraksi (20, 25 dan 30 menit). Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk uji toksisitas terhadap larva udang BSLT dan uji fitokimia dengan reagen. Data kematian *Artemia salina* dianalisis dengan analisis probit untuk mengetahui nilai LC_{50}. Hasil penelitian ini diperoleh rendemen ekstrak etanol 96% dengan lama waktu ekstraksi 20, 25 dan 30 menit masing-masing 18,159; 19,132; 18,280 ekstrak etil asetat (20, 25 dan 30 menit) 8,302; 7,282; 9,18 dan ekstrak *n*-heksana (20, 25 dan 30 menit) 7,815; 7,125; 7,279. Senyawa yang terkandung pada masing-masing ekstrak yaitu flavonoid, steroid dan triterpenoid. Nilai LC_{50} pada pelarut etanol ekstraksi 20, 25 dan 30 menit yaitu 613,258; 673,210 dan 2217,255 ppm, pelarut etil asetat ekstraksi 20, 25 dan 30 menit yaitu 1161,398; 1170,774 dan 701,532 ppm dan pada pelarut *n*-heksana ekstraksi 20, 25 dan 30 menit masing-masing 592,901; 617,425 dan 695,198 ppm.

Kata kunci: Bekatul, Metabolit sekunder, Toksisitas, Ultrasonik

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

Jannah, Dewi. W. 2020. **Identification and Toxicity Tests of Shrimp Larvae (Artemia Salina Leach) Rice Brand Extract Using Varirty of Solvents and Long Extractions.** Supervisior, Akyunul Jannah, S.Si. M.P. Supervisior II, Dr. H. Ahmad Barizi, M.A. Consultant, Anik Maunatin, S.T, M.P

Rice bran has good nutrition and bioactive components such as alkaloids, flavonoids, triterpenoids, steroids and others so it is very useful. Some of these bioactive components have toxic potential. The purpose of the study was to determine the toxicity value of bran bran extract, by using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method and to know the active compounds contained in the extract. Rice bran was extracted using the ultrasonic bath method using a variation of 96% ethanol, ethyl acetate and *n*-hexane with various extraction times (20, 25 and 30 minutes). The concentrated extract obtained was used for toxicity testing against BSLT shrimp larvae and phytochemical testing with reagents. Artemia salina mortality data were analyzed by probit analysis to determine LC_{50} values. The results of this study obtained 96% ethanol extract yield with extraction time of 20, 25 and 30 minutes respectively 18.159, 19.132, 18.280 ethyl acetate extracts (20, 25 and 30 minutes) 8.302, 7.282, 9.18 and *n*-hexane extracts (20, 25 and 30 minutes) 7.815, 7.125, 7.279. The compounds contained in each extract are flavonoids, steroids and triterpenoids. The LC_{50} value in ethanol extraction 20, 25 and 30 minutes were 613.258, 673.210 and 2217.255 ppm, ethyl acetate extraction 20, 25 and 30 minutes was 1161.298, 1170.774 and 701.532 ppm and in n-hexane extraction was 20, 25 and 30 minutes respectively 592.901, 617.425 and 695.198 ppm.

Keywords: Rice bran, Secondary metabolite Toxicity, Ultrasonic

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الملخص

الجنة، دوى. و. ٢٠٢٠. **تعريف و إختبار السمية من مقتطف نخالة الأرز باستخدام اختلاف المذيبات و وقت الاستخراج على يرقات الروبيان (ارتيميا سالينا ليتش)**. المشرفة الأولى، اعين الجنة الماجستيرة العالمية. المشرف الثاني، الدكتور الحج احمد باريزي المجستر. المستشارة، أنيك موناتين الماجستيرة العالمية.

نخالة الأرز لديها تغذية جيدة ومكونات نشطة بيولوجيا مثل القلويد والفلافونويد والتريتربنويد والستيرويد وغيرها حتى تصبح مفيدة جدا. وبعض لمكونات نشطة بيولوجيا امكانات سامة . وكان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد قيمة سمية مقتطف نخالة الأرز باستخدام طريقة اختبار قاتلة روبيان الفتاكة وتعريف المركبات النشطة الموجودة في المقتطف. تم مقتطف نخالة الأرز باستخدام طريقة الاستحمام بالموجات فوق الصوتية مع اختلاف المذيبات هي ٩٦% من الإيثانول و أسيتات الإيثيل و هكسان مع أوقات الإستخراج المختلفة (٢٠ و ٢٥ و ٣٠ دقائق). قد استخدم المقتطف المركز لاختبار السمية على يرقات الروبيان بطريقة اختبار قاتلة روبيان الفتاكة واختبار الكيمياء النباتية مع الكواشف. وقد تم تحليل بيانات وفيات الأرتيميا سالينا عن طريق تحليل الاحتمالية لتعريف قيمة تركيز الفتاكة.٥٠. حصلت نتائج هذه الدراسة على مقتطف ٩٦ % الإيثانول لمدة ٢٠ و ٢٥ و ٣٠ دقائق على التوالي ١٨،١٥٩؛ ١٩،١٣٢؛ ١٨،٢٨٠، و من أسيتات الإيثيل (٢٠ و ٢٥ و ٣٠ دقائق) هو ٨،٣٠٢ ؛ ٧،٢٨٢. ٩،١٨، و من هكسان (٢٠ و ٢٥ و ٣٠ دقائق) هو ٧،٨١٥ ؛ ٧،١٢٥؛ ٧،٢٧٩. المركبات الواردة في كل المقتطف هي الفلافونويد و الستيرويد و التريتيربينويد. كان نتيجة LC_{50} في مسيل الإستخلاص الإيتانول ٢٠ و ٢٥ دقائق هي ٦١٣،٢٥٨ و ٦٧٣،٢١٠ جزء في المليون، وفي مسيل الإستخلاص الإيتل الأسيتات هي ٧٠١،٥٣٢ جزء في المليون وفي مسيل الإستتخلاص الهكسان ٢٠ و ٢٥ و ٣٠ دقائق كلهم ٥٩٢،٩٠١ ؛ ٦١٧،٤٢٥ و ٦٩٥،١٩٨ جزء في المليون.

الكلمات الرئيسة: نخالة الرز، المستقلبات الثانوية، السمية، فوق الصوتية

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bekatul mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar trigliserida (sifat hipolipemik) dan kolesterol (sifat hipokolesterolemik) darah (Kahlon and Chow, 1996). Menurut Cahyanine, dkk. (2008) dalam Ovani (2013) bahwa bekatul mengandung lemak tidak jenuh yang tinggi sehingga aman dikonsumsi oleh penderita kolesterol dan penyakit jantung, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai suplemen pangan untuk meningkatkan kualitas kesehatan manusia. Bekatul juga mangandung komponen bioaktif atau senyawa fitokimia yang tinggi seperti tokoferol, tokotrienol, γ-oryzanol (Chen dan Bargmen, 2005) antioksidan fenolik (Chanphrom, 2007; Sompong, dkk., 2011) dan β-karoten (Champhrom, 2007). Adom, dkk. (2002) melaporkan bahwa antioksidan bekatul berupa oryzanol, tokoferol dan asam ferulat mampu menghambat kejadian kencing manis, penyakit Alzheimer, mencegah kejadian penyakit jantung dan kanker.

Menurut Lestiani dan Lanny (2008) tingkat kepolaran pelarut menentukan jenis dan jumlah senyawa yang dapat diekstrak dari bahan. Pelarut akan mengekstrak senyawa-senyawa yang mempunyai kepolaran yang sama atau mirip dengan kepolaran pelarut yang digunakan. Pelarut yang bisa digunakan antra lain etanol, etil asetat dan heksana. Hasil penelitian Ulfa (2016) ekstrak etanol, kloroform dan petroleum eter pada bekatul mengandung senyawa triterpenoid dan steroid. Moko (2014) hasil pengujian fitokimia ekstrak bekatul menghasilkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

senyawa fenolik, flavonoid, triterpenoid, alkanoid dan saponin menggunakan pelarut butanol, etil asetat dan heksan.

Pemilihan metode ekstraksi sangat penting dilakukan karena hasil ekstraksi akan mencerminkan tingkat keberhasilan metode tersebut (Abubecker, 2013). Ekstraksi bekatul dengan variasi pelarut merupakan cara untuk mengambil senyawa aktif yang ada di dalam bekatul. Metode konvensional memiliki kekurangan karena membutuhkan waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan banyak pelarut serta hasil ekstrak yang didapatkan kurang maksimal. Optimasi ekstraksi bekatul dapat dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik. Metode ultrasonik menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi 16-20 kHz. Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive*, sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi. Salah satu kelebihan metode ekstraksi ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi, dibandingkan dengan ekstraksi termal atau ekstraksi konvensional, metode ultrasonik ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar. Ultrasonik juga dapat menurunkan suhu operasi pada ekstrak yang tidak tahan panas, sehinga cocok untuk diterapkan pada ekstraksi senyawa bioaktif tidak tahan panas (Zou TB, 2014).

Penelitian yang dilakukan oleh Yuswi (2017) ekstrak Bawang dayak atau bawang hantu (Eleutherine palmifolia L.) metode ultrasonik perlakuan terbaik didapatkan dari pelarut etanol 96% dan lama ekstraksi (30 menit) dengan rendemen 7,84%, total fenol 240,62 mgGAE/g, flavonoid 106,03 mgQE/g. Handayani (2016) hasil ekstrak daun sirsak perlakuan terbaik diperoleh dari rasio

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

bahan:pelarut 1:10 (b/v) dan lama ekstrak 20 menit dengan rendemen 11,72% kandungan total fenol 15213,33 ppm, kadar flavonoid 45843 ppm.

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah metode menguji aktivitas suatu senyawa menggunakan hewan uji berupa larva udang *Artemia salina* L. *Artemia* salina merupakan jenis plankton yang dimanfaatkan sebagai pakan alami bagi berbagai macam ikan dan udang, *Artemia* mempunyai nutrisi lengkap sehingga sangat sesuai untuk pakan larva, A*rtemia* juga sesuai dengan bukaan mulut ikan maupun udang *Artemia* termasuk dalam kelompok udang-udang. Allah SWT berfirman dalam al-Quran surah an-Nahl ayat 14 :

وَهُوَالَّذِي سَخَّرَ البَحْرَ لِتَأْكُلُوامِنْهُ لَحْماً طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ مَوَاخِرَ فِيهِ

وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ

"Dan Dialah, Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar, dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur" QS. an Nahl (16) :14

Lafadz *sakhkhara al-bahra* menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan kepada hambanya laut sebagai sumber daya alam yang mempunyai banyak manfaat yang dapat digunakan oleh hambanya (Asy-Syanqithi, 2007). Dalam firman di atas, Allah SWT juga memerintahkan untuk memakan (*li ta'kulu*), mengeluarkan (*tastakhriju*), melihat (*wa taraa*) dan mencari (*li tabtaghu*) supaya manusia bisa mengambil manfaat sumberdaya laut (al-Qurtubi, 2008).

Nikmat-nikmat Allah itu disebutkan agar manusia mensyukuri semua nikmat yang diberikan-Nya kepada mereka dan juga agar manusia dapat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

memahami betapa besar nikmat Allah yang telah diberikan pada mereka dan memanfaatkan nikmat yang tiadatara itu untuk beribadah kepada-Nya dan kesejahteraan mereka sendiri. Aneka biota yang hidup dan berkembang di laut secara alamiah untuk keseimbangan ekosistem laut tetap terjaga (Lajnah, 2009) Tidak jarang laut juga dijadikan objek penelitian, seperti larva udang *Artemia Salina* yang hidup di kedalaman laut dengan banyak manfaat yang bisa diambil. Salah satunya sebagai hewan uji coba untuk menentukan sifat ketoksikan suatu sampel tanaman.

Metode BSLT ini telah digunakan sejak 1956 untuk berbagai pengamatan bioaktivitas antara lain untuk mengetahui residu pestisida, anestetik lokal, senyawa turunan morfin, mikotoksin, karsinogenesitas suatu senyawa (Meyer, 1982). Metode ini merupakan bioassay yang cepat, murah, dapat dipercaya dan hasil yang diperoleh sering dihubungkan dengan aktivitas sitotoksik yang merupakan syarat utama obat-obat antitumor. Sementara hasil ekstraks dengan metode yang berbeda juga akan menghasilkan ekstrak yang berbeda.

Hasil penelitian Rahma (2018) uji toksisitas tanaman anting-anting (*acalypha indica* l.) hasil ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan lama ekstraksi menyatakan bahwa toksisitas pelarut etanol dengan lama ekstraksi 10, 20, dan 30 menit menghasilkan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 35,3660; 33,6686; dan 39,0629 ppm, sedangkan pelarut metanol lama ekstraksi 10, 20, dan 30 menit masing-masing sebesar 35,2547; 39,0629; dan 41,0490 ppm. Pelarut etil asetat dengan lama ekstraksi 10, 20, dan 30 menit masing-masing sebesar 39,0629; 35,3660; dan 42,9557 ppm. Nilai keaktifan tertinggi diperoleh ekstrak n-heksana dengan nilai LC_{50} sebesar 189,093 ppm dan 286,031 ppm untuk ekstrak

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

etanol. Kandungan senyawa aktif hasil uji reagen menunjukkan adanya potensi bioaktivitas dalam ekstrak teripang pasir (*H.scabra*) yaitu adanya golongan senyawa alkaloid (dalam ekstrak etanol) dan steroid (dalam ekstrak etanol dan heksana).

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan uji toksisitas bekatul terhadap larva udang (*Artemia salina Leach*) untuk mengetahui tingkat merusaknya suatu zat jika dipaparkan terhadap organisme dengan metode ekstraksi ultrasonik. Keuntungan ekstraksi menggunakan ultrasonik dibanding dengan ektraksi konvensional adalah waktu dan energinya lebih diminimalisir. Ekstraksi ini dilakukan dengan variasi pelarut yaitu etanol, etil asitat dan heksan serta lama ekstraksi yaitu 20 menit, 25 menit dan 30 menit. Sedangkan uji toksisitas ini dilakukan dengan metode BSLT yang merupakan uji awal dilakukan untuk mengetahui aktivitas toksik suatu senyawa dalam ekstrak. Dari penelitian ini, diharapkan nilai toksisitas bekatul dengan nilai LC_{50} yang rendah dan dapat dikembangkan di dunia farmakologi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh variasi pelarut dan lama ekstraksi terhadap nilai toksisitas ekstrak kasar Bekatul pada larva udang (*Artemia salina* Leach.)?
2. Golongan senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak bekatul yang mempunyai aktivitas toksisitas terbaik hasil KLT.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh variasi pelarut dan lama ekstraksi terhadap nilai toksisitas ekstrak kasar Bekatul pada larva udang (*Artemia salina* Leach).
2. Mengetahui golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak kasar yang mempunyai aktivitas toksistas terbaik dari hasil KLT.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah bekatul beras putih.
2. Metode ekstraksi menggunakan metode ultrasonik.
3. Pelarut yang digunakan saat ekstraksi menggunakan pelarut etanol, etil asetat, n-heksan.
4. Metode pengujian toksisitas yaitu metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)
5. Tingkat toksisitas yang ditunjukkan melalui nilai LC_{50} diukur dengan analisis probit.
6. Senyawa aktif dari ekstrak bekatul hasil KLT.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberi informasi nilai rendemen tertinggi berdasarkan variasi pelarut dan lama waktu ekstraksi.
2. Memberi informasi tentang potensi Bekatul sebagai toksisitas.
3. Memberi informasi mengenai kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak bekatul hasil KLT.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Manfaat Laut Dalam Perspektif Islam

Allah menciptakan segala sesuatu di langit dan di bumi hanya untuk berdzikir (mengingat) tentang keagungan dan kekuasaan Allah. Alam semesta dan keseluruhannya memiliki nilai manfaat bagi keberlangsungan hidup makhluk-makhluk yang Allah ciptakan. Laut memiliki banyak fungsi/peran/manfaat bagi kehidupan manusia dan makhluk hidup lainnya karena di dalam dan di atas laut terdapat kekayaan sumber daya alam yang dapat kita manfaatkan. Manfaat laut bagi kehidupan manusia diantaranya sebagai jalur transportasi, sumber makanan, tempat budidaya, tempat cadangan air bumi dan juga sebagai objek riset penelitian dan pendidikan. Ada berbagai biota yang hidup dan berkembang di laut. Sehingga tak jarang, laut juga digunakan sebagai objek riset sebuah penelitian.

Allah memerintahkan kita untuk mempelajari setiap kandungan ayat al-Qur'an. Kita perlu meningkatkan pemahaman mengenai ayat-ayat al-Qur'an, karena di dalamnya terkandung pengetahuan yang banyak terhadap alam semesta. Sebagaimana firman Allah dalam surat al-Jaatsiyah ayat 13 yaitu:

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِنْهُ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

*"Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir."*Q.S al-Jaatsiyah : 13

Ayat di atas menjelaskan bahwa penundukan tersebut secara potensial terlaksana melalui hukum-hukum alam yang ditetapkan Allah dan kemampuan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

yang dianugerahkan kepada manusia. Manusia berpotensi mengetahui rahasia alam raya dan mengantarkan manusia untuk memanfaatkan alam yang telah ditundukkan oleh Allah. Segala nikmat ini merupakan bukti kekuasaan Allah bagi kaum yang memikirkan, mengkajinya dan melakukan penelitian ilmiah (Shihab, 2002).

Keberhasilan suatu usaha budidaya biota laut sangat dipengaruhi oleh berbagai macam kegiatan penunjang, salah satu kegiatan penunjang tersebut adalah penyediaan makanan hidup bagi biota yang dibudidayakan. Makanan hidup dapat berupa zooplankton dan fitoplankton. Salah satu makanan hidup yang biasa diberikan ialah *Artemia salina*. *Artemia salina* juga digunakan sebagai hewan uji untuk jenis penelitian bersifat toksik. Selain laut, ciptaan Allah di bumi yang menunjukkan kekuasaan dan anugerahNya adalah tumbuhan. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surah al-An'am ayat 95 :

إِنَّ ٱللَّهَ فَالِقُ ٱلْحَبِّ وَٱلنَّوَىٰ ۖ يُخْرِجُ ٱلْمَيِّتِ مِنَ ٱلْحَيِّ وَمُخْرِجُ ٱلْحَيِّ مِنَ ٱلْمَيِّتِ ۚ ذَٰلِكُمُ ٱللَّهُ ۖ فَأَنَّىٰ تُؤْفَكُونَ

"Sesungguhnya Allah menumbuhkan butir tumbuh-tumbuhan dan biji buah-buahan. Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup, (yang memiliki sifat-sifat) demikian ialah Allah. Maka mengapa kamu masih berpaling?". Q.S al-An'am : 95.

Maha Besar dan Maha Kuasa Allah yang mampu menghidupkan sesuatu dari yang mati atau sebaliknya. Seperti biji yang merupakan cikal bakal tanaman baru. Atas kuasanya, biji tanaman tumbuh dengan mengikat nitrogen di udara, kemudian tumbuh akar, batang, daun, bunga dan buah yang kemudian disebut tumbuhan. Selanjutnya tumbuhan dimanfaatkan manusia dan hewan untuk keberlangsungan hidupnya (al-Faran, 2007). Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda. Tanaman padi selain

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

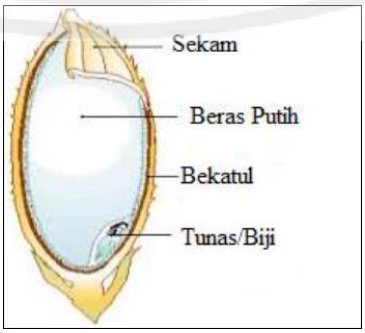
digunakan sebagai sumber makanan pokok juga dapat digunakan sebagai obat, salah satu bentuknya yaitu dengan melakukan penelitian untuk mencari obat dari bahan-bahan alam, seperti bekatul. Tumbuhan memiliki banyak manfaat bagi hidup manusia salah satunya adalah sebagai obat. Nabi Muhammad SAW bersabda yang diriwayatkan oleh Jabir bin Abi Abdillah (Fattah, 2010) :

إِنَّ اللَّهَ مَا أَنْزَلَ دَاءٍ إِلَّا أَنْزَلَهُ دَوَاءٌ عَلِّمْهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهِّلْهُ مَنْ جَهِلَهُ فَـإِنَّ أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ

"Sesungguhnya Allah tidak menurunkan penyakit melainkan menurunkan obatnya, yang diketahui oleh orang yang mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak mengetahuinya. Jika obat menimpa penyakit, maka penyakit tersebut akan hilang dengan seizin Allah."

2.2 Bekatul

Bekatul (*rice bran*) adalah hasil samping dari pengolahan padi yang umumnya digunakan untuk makanan ternak. Penggilingan padi menghasilkan rendemen berupa sekam 20 %, 8% bekatul, lembaga 2%, dan beras sosoh 70 % (Orthoefer, 2001). Bekatul yang dihasilkan dari penggilingan padi dapat mencapai 8-12% dari jumlah total padi. Hasil sampingan lainnya adalah 15-20% sekam yang merupakan kulit terluar dan 3% menir (BB Pascapenen, 2007).



Gambar 2.1 Bagian biji (BB Pascapenen, 2007).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.3 Manfaat dan Kandungan Bekatul

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa bekatul memiliki kualitas atau nutrisi yang baik seperti lemak, protein, serat, vitamin, mineral dan komponen bioaktif (antioksidan). Komponen kimia bekatul terdiri dari protein 11,8–13,0%, lemak 10,1–12,4%, abu 5,2–7,3%, karbohidrat 51,1–55,0%, serat kasar 2,3-3,2% dan lain–lain. Devi dan Arumughan (2006) menemukan adanya kandungan senyawa fenolik pada fraksi non lemak bekatul (*defatted rice bran*) yang diekstrak dengan methanol. Pada serealia, senyawa fenolik terutama terdapat pada bagian perikarp. Senyawa fenolik memiliki sifat-sifat biologis seperti : antioksidan, antiapoptosis, anti penuaan, antikarsinogen, antiinflamasi, antiatheroskerosis, proteksi kardiovaskuler, perbaikan fungsi endotelium, menghambat angiogenesis dan aktivitas proliferasi sel.

Bekatul juga mengandung vitamin B dari golongan tiamin, riboflavin, niasin, dan pirodoxin. Bekatul mempunyai aktivitas sebagai antioksidan alami, terutama δ-tokoferol dan tokotrienol, serta fraksi γ-oryzanol. Oryzanol dalam bekatul merupakan antioksidan alami yang sangat kuat dan lebih efektif mencegah radikal bebas dibandingkan vitamin E (Hadipernata, 2007) dan dimanfaatkan sebagai pelindung terhadap sinar ultraviolet berlebih dari matahari (tabir surya) (Wasitaatmadja, 1997).

Fraksi minyak bekatul (*rice bran oil*) mempunyai manfaat yang sangat baik bagi kesehatan, diantaranya : antioksidan (Rana, dkk., 2004), penurunan kolesterol dalam darah (Kahlon, dkk., 1996), hiperlipidaemia (Kuriyan, dkk., 2005), penurunan LDL (*low density lipoprotein*) tanpa penurunan HDL (*high density lipoprotein*), pencegahan penyakit kardiovaskular, kanker, serta

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menghambat waktu menopause. Tazakori, dkk. (2007) mengatakan bahwa selain mampu menurunkan lipida darah dan meningkatkan HDL, bekatul juga dapat menurunkan tingkat glukosa darah pada pasien diabetes tipe II. Oleh karena itu, baik bekatul maupun minyak bekatul dapat dimanfaatkan sebagai suplemen pangan untuk meningkatkan kualitas kesehatan manusia.

2.4 Ekstraksi Metode Ultrasonik

Metode ekstraksi alternatif salah satunya menggunakan gelombang ultrasonik. Ekstraksi *ultrasonic bath* dengan menggunakan gelombang ultrasonik yang merupakan ekstraksi dengan perambatan energi melalui gelombang dengan menggunakan cairan sebagai media perambatan yang dapat meningkatkan intensitas perpindahan energi sehingga proses ekstraksi lebih maksimal dibandingkan metode ekstraksi konvensional menggunakan gelombang akustik dengan frekuensi 16-20 kHz. Penggunaan ultrasonik dapat menimbulkan efek kavitasi yang dapat memecah dinding sel bahan sehingga antosianin keluar dengan mudah dan didapatkan hasil ekstrak yang maksimal dengan proses ekstraksi yang jauh lebih singkat (Kuldikole, 2002) Prinsip ekstraksi ultrasonik ialah tegangan mekanik dan kavitasi. Tegangan mekanik terjadi akibat perambatan gelombang ultrasonik mengenai sampel, sehingga sampel menjadi partikel dengan ruang yang kecil dan gelombang ini menimbulkan efek kavitasi yang akan memecah dinding sel dan pelarut akan terdifusi dalam sel menyebabkan senyawa aktif dalam sel akan keluar dan terekstraksi (Torres, dkk., 2017).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive*, sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi. Salah satu kelebihan metode ekstraksi ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi, dibandingkan dengan ekstraksi termal atau ekstraksi konvensional, metode ultrasonik ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar. Ultrasonik juga dapat menurunkan suhu operasi pada ekstrak yang tidak tahan panas, sehinga cocok untuk diterapkan pada ekstraksi senyawa bioaktif tidak tahan panas. Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi ultrasonik yaitu lama ekstraksi, rasio bahan:pelarut, suhu, dan pemilihan pelarut. Faktor-faktor tersebut mempengaruhi nilai rendemen yang dihasilkan. (Zou TB, dkk., 2014).

Pemilihan jenis pelarut didasarkan pada kepolaran zat yang akan diekstrak, sedangkan waktu ekstraksi mempengaruhi lamanya kontak bahan dengan pelarut serta gelombang ultrasonik. Senyawa fenolik rentan terhadap oksidasi karena salah satu sifat dari senyawa fenolik adalah sebagai antioksidan, oleh karena itu lama waktu ekstraksi terhadap bahan fenolik perlu diperhatikan.

2.5 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan salah satu uji aktivitas biologi terhadap ekstrak atau fraksi isolat tanaman dengan mengamati respon kematian pada hewan percobaan. Hewan percobaan untuk uji toksisitas biasanya menggunakan ikan, larva nyamuk dan larva udang. Kematian dari hewan percobaan dianggap sebagai respon terhadap pengaruh senyawa tertentu. Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Meyer, senyawa kimia yang mempunyai nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm dikatakan mememiliki potensi toksik (Ganiswarna, 1995).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat sitotoksik adalah dengan uji toksisitas terhadap larva udang dari *Artemia Salina* Leach. Metode ini sering digunakan untuk pra-skrining terhadap senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tanaman karena murah, cepat, mudah (tidak perlu kondisi aseptis) dan dapat dipercaya (Meyer, dkk., 1982).

2.5.1 *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Toksisitas *(toxicity)* merupakan ukuran relatif derajat racun suatu bahan terhadap organisme karena dapat menimbulkan kerusakan apabila masuk ke dalam tubuh dan lokasi organ yang rentan terhadapnya. Salah satu metode uji toksisitas yang mudah, murah, cepat dan akurat yaitu dengan menggunakan larva *Artemia Salina* Leach. dikenal dengan istilah BSLT. Uji mortalitas larva udang merupakan salah satu metode uji bioaktivitas pada penelitian senyawa bahan alam. Penggunaan larva udang untuk kepentingan studi bioaktivitas sudah dilakukan sejak tahun 1956 dan sejak saat itu telah banyak dilakukan pada studi lingkungan, toksisitas, dan penapisan senyawa bioaktif dari jaringan tanaman (Dewi, 2011).

Uji ini merupakan uji pendahuluan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa. Adapun penerapan untuk sistem bioaktivitas dengan menggunakan larva udang tersebut antara lain, untuk mengetahui residu pestisida, anastetik lokal, senyawa turunan morfin, mikotoksin, karsinogenitas suatu senyawa dan polutan untuk air laut serta sebagai alternatif metode yang murah untuk uji toksisitas (Hamburger dan Hostettman, 1991). Selain itu, perkembangbiakan *Artemia salina* Leach. Berlangsung cepat, hanya memerlukan sedikit sampel dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tidak memerlukan laboratorium khusus (Kristanti, dkk., 2006) dan hasilnya bisa dipercaya, yakni memiliki korelasi positif dengan uji sitotoksik pada sel kanker (Astuti, dkk., 2005). Menurut Panjaitan (2011), *Artemia salina* memiliki kesaman tanggapan dengan mamalia seperti tipe DNA-*dependent* RNA *polymerase* (DNA yang mengarahkan proses transkripsi RNA). Hal ini menyebabkan senyawa atau ekstrak pada sistem tersebut dapat dideteksi melalui metode ini. Kategori toksisitas bahan ditampilkan pada Tabel 2.1 (Meyer, dkk., 1982).

Tabel 2.1 Kategori toksisitas bahan

Kategori	**LC50 (µg/mL)**
Sangat toksik	< 30
Toksik	30-1000
Tidak toksik	> 1000

Senyawa aktif yang memiliki daya bioaktivitas tinggi diketahui berdasarkan nilai *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}), yaitu suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi zat toksik yang dapat menyebabkan kematian hewan uji sampai 50%. Data mortalitas yang diperoleh kemudian diolah dengan analisis probit yang dirumuskan oleh Finney (1971) untuk menentukan nilai LC_{50} pada derajat kepercayaan 95%. Senyawa kimia memiliki potensi bioaktif jika mempunyai nilai LC_{50} kurang dari 1000 µg/ml (Meyer, dkk., 1982).

Adapun penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai *Lethal Concentration* (LC_{50}) masing-masing dengan ketentuan Mc. Laughin (1991):

- LC_{50} < 30 ppm, ekstrak berpotensi sebagai antikanker (sitotoksik).
- LC_{50} 30-200 ppm, ekstrak berpotensi sebagai antimikroba.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

- LC_{50} 200-1000 ppm, ekstrak berpotensi sebagai pestisida.

Prinsip metode BSLT adalah uji toksisitas akut (mematikan) terhadap *Artemia salina* Leach dengan penentuan nilai LC_{50} setelah perlakuan 24 jam. Parameter yang menunjukkan adanya aktivitas biologi suatu senyawa pada *Artemia salina* Leach adalah kematiannya (Meyer, dkk., 1982). Hal yang penting dalam pengujian toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach adalah digunakannya air laut sebagai media hidup larva, baik dalam proses penetasan telurnya maupun uji toksisitasnya. Dalam penetasan telur *Artemia salina* Leach, dilakukan proses aerasi selama 48 jam untuk memberikan oksigen yang cukup bagi keberlangsungan hidup *Artemia salina* Leach. *Artemia salina* Leach yang digunakan dalam pengujian toksistas adalah yang telah berumur 48 jam (fase *nauplius*), karena pada waktu tersebut, larva berada pada kondisi yang peka terhadap suatu perlakuan. Organ-organ pada *Artemia salina* sudah terbentuk lengkap. Dengan kata lain, *Artemia salina* Leach berada pada fase paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis (Panjaitan, 2011).

Pada pengujian toksisitas, *Artemia salina* Leach perlu diberi tambahan makanan berupa larutan ragi roti untuk keberlangsungan hidupnya, karena setelah menetas, larva sudah memiliki mulut, saluran pencernaan, dan dubur. Larutan ragi roti digunakan sebagai makanan *Artemia salina* Leach karena memiliki ukuran yang kecil. *Artemia salina* sendiri hanya dapat menelan makanan yang berukuran kurang dari 50 mikron. Apabila makanan lebih besar dari 50 mikron, larva tidak akan mampu mengkonsumsinya karena *Artemia salina* Leach mengambil makanan dengan cara menelannya bulat-bulat (Mudjiman, 1983).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

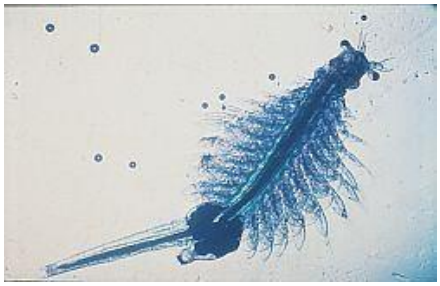
2.5.2 Larva Udang (*Artemia salina* Leach)

Artemia atau *brine shimp* adalah sejenis udang-udangan primitif. Mulanya artemia diberi nama *Cancer salinus* oleh Linnaeus tahun 1778 karena daya toleransinya terhadap salinitas yang tinggi, dan selanjutnya pada tahun 1819 diubah lagi menjadi *Artemia salina* oleh Leach. (Mudjiman, 1988 dalam Djajadisastra, 2007). *Artemia* hidup secara planktonik diperairan laut yang kadar garamnya (salinitasnya) berkisar antara 15-300 per mil dan suhunya berkisar antara 26-31^{o}C serta nilai pH 7,3-8,4. Keistimewaan *Artemia* sebagai plankton adalah memiliki toleransi (kemampuan beradaptasi dan mempertahankan diri) pada kisaran kadar garam yang sangat luas. Pada kadar garam yang sangat tinggi dimana tidak ada satupun organisme lain mampu bertahan hidup. Klasifikasi *Artemia salina* Leach. dapat diuraikan sebagai berikut (Mudjiman, 1995) .

Kingdom : Animalia
Phylum : Arthropoda
Class : Crustacea
Subclass : Branchiopoda
Ordo : Anostraca
Family : Artemiidae
Genus : Artemia
Spesies : *Artemia salina* Leach.

Artemia salina L merupakan salah satu komponen penyusun ekosistem laut yang keberadaan sangat penting untuk perputaran energi dalam rantai makanan. Selain itu *Artemia salina* Leach. juga dapat digunakan dalam uji laboratorium untuk mendeteksi toksisitas suatu senyawa dari ekstrak tumbuhan (Kanwar, 2007). Bentuk *Artemia salina* L secara morfologi dapat dilihat pada Gambar 2.2.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 2.2 *Artemia salina* Leach.

Artemia salina Leach dewasa memiliki panjang tubuh umumnya sekitar 8-10 mm bahkan mencapai 15 mm tergantung lingkungan. Tubuhnya memanjang terdiri sedikitnya 20 segmen dan dilengkapi kira-kira 10 pasang *phyllopodia* pipih, yaitu bagian tubuh yang menyerupai daun yang bergerak dengan ritme teratur. *Artemia salina* Leach dewasa berwarna putih pucat, merah muda, hijau, atau transparan dan biasanya hanya hidup beberapa bulan. Memiliki mulut dan sepasang mata pada antenanya. Di antara ekor dan pasangan kaki paling belakang terdapat sepasang alat kelamin (biseksual). Telur *Artemia salina* Leach berbentuk bulat berlekuk dalam keadaan kering dan bulat penuh dalam keadaan basah. Warnanya coklat dan diselubungi oleh cangkang yang tebal dan kuat. Cangkang ini berfungsi untuk melindungi embrio terhadap pengaruh kekeringan, benturan keras sinar ultraviolet dan mempermudah pengapungan (Kanwar, 2007).

Artemia salina Leach yang sudah dewasa dapat hidup sampai enam bulan. Sementara induk-induk betinanya akan bertelur setiap 4-5 hari sekali dihasilkan 50-300 telur atau *nauplius*. *Nauplis* akan dewasa setelah berumur 14 hari, dan siap untuk berkembang biak (Mudjiman, 1995). Telur *Artemia salina* Leach dapat diperoleh di toko-toko akuarium atau di tempat pembenihan udang, karena telur ini juga digunakan sebagai pakan untuk ikan-ikan tropis. Telur *Artemia* ini disimpan selama beberapa tahun pada tempat yang kering (Djajadisastra, 2007).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Artemia salina Leach dapat diperjual belikan dalam bentuk telur istirahat yang disebut kista. Kista ini berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kecoklatan dengan diameter berkisar 200-300 mikron. Kista yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18-24 jam apabila diinkubasi air yang bersalinitas 5-70 permil. Ada beberapa tahapan pada proses penetasan *Artemia salina* Leach ini yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif bermetabolisme. Tahap selanjutnya adalah tahap pecah cangkang dan disusul tahap payung yang terjadi beberapa saat sebelum *nauplius* keluar dari cangkang (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995).

2.6 Komponen Senyawa Aktif

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama (Lenny, 2006). Menurut Kannan, dkk. (2009) komponen senyawa aktif tidak terbatas pada hasil metabolisme sekunder saja, tetapi juga termasuk metabolit primer yang memberikan aktivitas biologis fungsional, misalnya protein dan peptida. Pengujian kualitatif terhadap komponen senyawa aktif ini dapat dilakukan dengan metode uji fitokimia.

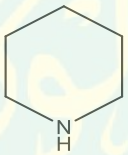
Salah satu pendekatan untuk penelitian tumbuhan obat adalah penapis senyawa kimia atau biasa disebut dengan skrining fitokimia yang terkandung dalam tanaman. Metode ini digunakan untuk mendeteksi adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, senyawa fenolat, tannin, saponin, kumarin, steroid / terpenoid (Teyler, 1988). Skrining fitokimia adalah metode analisis untuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menentukan jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuh–tumbuhan karena sifatnya yang dapat bereaksi secara khas dengan pereaksi tertentu. Skrining fitokimia dilakukan melalui serangkaian pengujian dengan menggunakan pereaksi tertentu.

2.6.1 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006). Struktur senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.3.

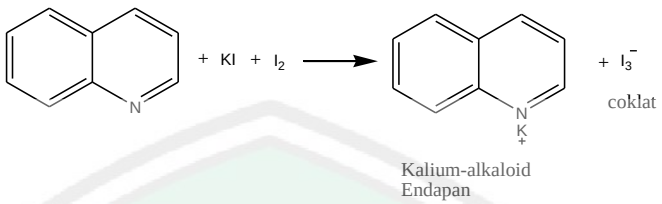


Gambar 2.3 Struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995).

Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Meyer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silikotungstat 5 %, asam tanat 5 %, pereaksi Dragendorff (kalium tetraiodobismutat), dan iodoplatinat. Pereaksi yang paling umum digunakan untuk menyemprot kromatogram adalah pereaksi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

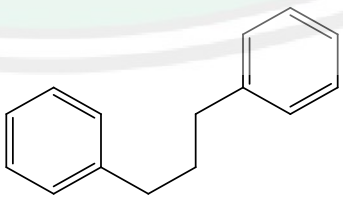
Dragendorff (Robinson, 1995). Persamaan uji Wagner dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Perkiraan reaksi uji Wagner.

2.6.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang tersebar luas di alam. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C6-C3-C6 yang artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan pada rantai C3 sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995). Struktur senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.5.

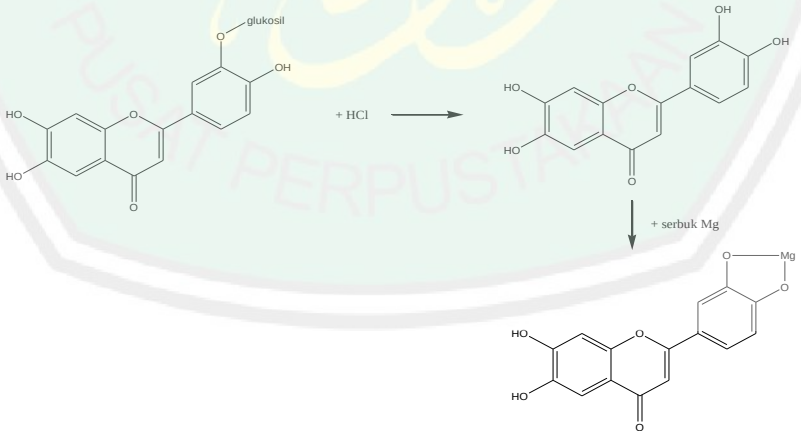


Gambar 2.5 Struktur inti senyawa flavonoid (Robinson, 1995).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Apabila suatu ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, maka setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid pada metode Wilstater dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Mariana, 2013).

Purwaningsih (2003) mengisolasi senyawa flavonoid dari biji kacang tunggak dengan pelarut metanol menghasilkan ekstrak berwarna kuning. Praptiwi, dkk. (2007) dalam penelitiannya tentang antimalaria ekstraksi pahit menunjukkan adanya senyawa flavonoid dari fraksi diklorometana. Persamaan reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan logam Hg dan HCl pekat dapat dilihat pada Gambar 2.6.

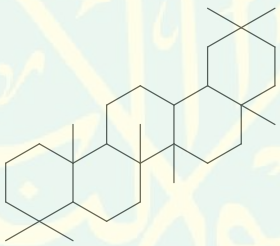


Gambar 2.6. Reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat (Robinson, 1995).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.6.3 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan komponen tumbuhan yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan sebagai minyak atsiri. Triterpenoid terdiri dari kerangka dengan 3 siklik 6 yang bergabung dengan siklik 5 atau berupa 4 siklik 6 yan mempunyai gugus pada siklik tertentu (Lenny, 2006). Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C30 asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987). Struktur senyawa triterpenoid dapat dilihat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur senyawa triterpenoid (Robinson, 1995).

Senyawa ini paling umum ditemukan pada tumbuhan berbiji dan sebagai glikosida. Triterpenoid alkohol monohidroksi dalam tumbuhan tidak bersamaan dengan pigmen, sedangkan triterpenadiol berada bersama-sama dengan karotenoid dan triterpenoid asam dengan flavonoid (Robinson, 1995).

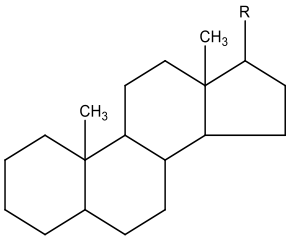
Pereaksi yang umumnya digunakan untuk mendeteksi triterpenoid adalah Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna violet. Isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard yaitu akan terjadi perubahan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua (Harborne, 1987).

2.6.4 Steroid

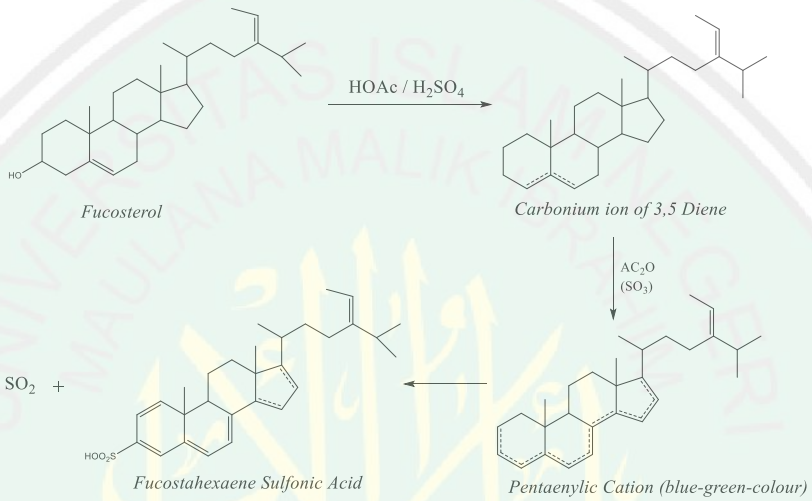
Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena, yang memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana terpadu dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana tersebut (Poedjiadi, 1994). Steroid tersusun dari isopren-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non-polar. Beberapa senyawaan steroid mengandung gugus –OH yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya yang cenderung lebih polar. Beberapa turunan steroid yang penting ialah steroid alkohol atau sterol. Steroid lain antara lain asam-asam empedu, hormon seks (androgen dan estrogen) dan hormon kortikosteroid. Senyawa steroid terdapat dalam setiap makhluk hidup. Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol. Beberapa senyawa ini jika terdapat dalam tumbuhan akan dapat berperan menjadi pelindung. Senyawa ini tidak hanya bekerja menolak beberapa serangga tetapi juga menarik beberapa serangga lain (Robinson, 1995). Struktur inti senyawa steroid dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur inti senyawa steroid (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Reaksi warna yang digunakan untuk uji warna pada steroid adalah dengan reaksi Lieberman-Burchard yang menghasilkan warna hijau biru. Reaksi warna yang lain pada steroid dilakukan dengan Brieskorn dan Briner (asam klorosulfonat dan Sesolvan NK) menghasilkan warna coklat (Robinson, 1995). Reaksi fukosterol dengan reagen Lieberman-Burchard dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Contoh reaksi fukosterol dengan reagen Lieberman Burchard (Robinson, 1995).

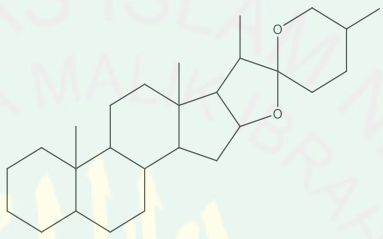
2.6.5 Saponin

Saponin berasal dari bahasa latin *sapo* yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin dalam larutan yang sangat encer dapat sebagai racun ikan, selain itu saponin juga berpotensi sebagai antimikroba, dapat digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid. Dua jenis saponin yang dikenal yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid. Aglikonnya disebut sapogenin, diperoleh dengan hidrolisis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dalam asam atau menggunakan enzim (Robinson, 1995).

Saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang bertahan cukup lama setelah dikocok dengan air dan ditambahkan HCl. Pemisahan saponin melalui plat silika gel KLT menggunakan larutan pengembang seperti butanol yang dijenuhkan dengan air atau kloroform-metanol-air (13:7:2) (Harborne, 1987). Struktur inti senyawa saponin dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995).

2.7 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan metode pemisahan campuran analit dengan mengelusi analit melalui suatu lempeng kromatografi lalu melihat komponen/analit yang terpisah dengan penyemprotan atau pengecatan (Gandjar dan Rohman, 2007). Metode pemisahan ini didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen dalam dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak yang berbeda tingkat kepolarannya. Apabila molekul-molekul komponen berinteraksi secara lemah dengan fasa diam maka komponen tersebut akan bergerak lebih cepat meninggalkan fasa diam. Keberhasilan pemisahan kromatografi bergantung pada daya interaksi komponen-komponen campuran dengan fasa diam dan fasa gerak (Hendayana, 2006).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lapisan tipis seperti plat silica gel F_{254} yang digunakan dalam penelitian ini mengandung indikator *flouresensi* yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak warna pada lapisan yang telah dikembangkan. Indikator *flouresensi* adalah senyawa yang memancarkan sinar, seperti dengan lampu UV. *Flouresensi* sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berflouresensi, membuat bercak akan terlihat jelas. Jika senyawa tidak berflouresensi maka bahan penyerapnya akan diberi indikator yang berflouresensi, dengan demikian bercak akan kelihatan hitam sedang latar belakangnya akan terlihat berflouresensi (Gandjar dan Rohman, 2007). Panjang gelombang sinar ultraviolet yang biasanya digunkan 254 dan 366 nm.

Lampu ultra violet pada panjang gelompang 254 nm dan ultraviolet 366 nm, lempeng akan berflouresensi sedangakan sampel akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu ultraviolet 254 nm karena adanya daya interaksi antara sinar ultraviolet dengan indikator *flouresensi* yang terdapat pada lempeng. Penampakan pada lampu ultraviolet 366 nm karena adanya daya interaksi antara sinar ultraviolet dengann gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda tersebut. *Flouresensi* cahata yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepas energi. Noda yang tampak pada lampu ultraviolet 366 nm terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berflouresensi pada sinar ultraviolet 366 nm (Sudjadi, 1988). Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

harga R_f *(Retention factor)*. Perhitungan harga R_f dapat dilihat pada persamaan 2.1 (Gandjar dan Rohman, 2007).

$$\text{Harga } R_f = \frac{Jarak\ yang\ ditempuh\ solution}{Jarak\ yang\ ditempuh\ fasa\ gerak} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots(2.1)$$

Harga R_f *(Retention factor)* untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga R_f standart. Harga R_f dipengaruhi oleh faktor yang mempengaruhi gerak noda dalam KLT diantaranya adalah struktuk kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, jenis eluennya, dan jumlah cupliakn yang digunakan tidak terlalu berlebihan (Sastrohamidjojo, 1991).

Gunawan, dkk. (2008) menyatakan bahwa identifikasi golongan steroid menggunakan campuran eluen klorofrm : metanol (3:7) pada ekstrak meniran menghasilkan 1 noda berwarna ungu muda dengan harga *Rf* 0,58. Penelitian yang dilakukan oleh Hayati (2012) menyatakan bahwa identifikasi senyawa steroid pada tanaman anting-anting dapat menggunakan KLT dengan eluen heksana : etil asetat (7:3) dan disemprot dengan perekasi *Lieberman-Burchard* menunjukkan terbentuknya noda berwarna hijau, biru ungu sampai coklat. Padfa sinar ultraviolet 366 nm ekstrak etil asetat anting-anting terdapat 9 noda dengan harga R_f berturut-turut adalah 0,66 ; 0,11 ; 0,38 ; 0,47 ; 0,56 ; 0,77 ; 0,8 dan 0,83 dengan warna noda berturut-turut hijau kebiruan, hijau kebiruan, merah muda, hijau, merah muda, ungu tengah biru kehijauan, orange, hijau kebiruan dan hijau kebiruan muda.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 – Agustus 2019 di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas, pipet tetes, neraca analitik, kertas saring, ayakan 40 mesh, batang pengaduk, oven, vortex, ultrasonic bath, Kromatografi Lapis Tipis (KLT), aluminium foil, bola hisab, gelas arloji, spatula, rotary evaporator, mikro pipet, chamber KLT, pipa kapiler, botol semprot, plastik warp, spatula.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bekatul beras putih, air tawar, aquades, air laut, pelarut n-heksana, etil asetat, etanol, larva udang (*Artemia salina* Leach), aquades, serbuk Mg, NaCl, HCl pekat, $FeCl_3$, H_2SO_4, ragi roti, beberapa reagen yang diperlukan untuk uji fitokimia, meliputi reagen untuk uji flavonoid, triterpenoid/steroid, alkaloid, saponin.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel bekatul disaring dengan ayakan 40 mesh dan diuji kadar airnya. Serbuk yang diperoleh diekstrak dengan metode ultrasonik bath menggunakan variasi jenis pelarut etanol, etil asetat dan n-heksana dengan waktu ekstrak yaitu 20, 25 dan 30 menit. Kemudian di evaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60^{o}C. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Masing-masing ekstrak diuji keberadaan kandungan golongan senyawa aktifnya melalui uji fitokimia dengan uji reagen meliputi golongan alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid/steroid, dan tanin. Dan juga diuji toksisitasnya dengan metode BSLT menggunakan hewan uji larva udang *Artemia.salina* Leach.. Sebelumnya, larutan ekstrak dibuat dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100, 200, 500 dan 1000 ppm. Parameter pengamatan yang digunakan adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji yang dapat dilihat dari kematian/mortalitas hewan uji dalam botol vial yang berisi konsentrasi ekstrak yang berbeda dan 10 ekor larva udang *Artemia Salina* Leach. dan disertai dengan tabung kontrol. Data yang diperoleh dari masing-masing pengamatan kemudian ditentukan nilai LC_{50}-nya melalui analisis probit menggunakan SPSS 20.

Ekstrak hasil toksisitas terbaik dari golongan senyawa aktif yang positif hasil uji reagen, selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa aktif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji KLT ini menggunakan silika gel F_{254} sebagai fasa diamnya dan para meter yang digunakan adalah banyaknya noda yang dihasilkan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4 Tahapan Penelitian

1. Preparasi Sampel.
2. Uji Kadar Air secara Termogravimetri.
3. Ekstraksi ultrasonik.
4. Uji Toksisitas terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach).
5. Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen
6. Pemisahan senyawa aktif dengan kromatografi lapis tipis (KLT)
7. Analisis Data.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Bekatul yang digunakan adalah jenis beras putih varietas pertiwi hasil penggilingan padi di Desa ketetang, Kecamatan Kwanya, Bangkalan. Bekatul sebanyak 100 gram diayak dengan ukuran 40 mesh dan di bungkus dengan *aluminium foil*.

3.5.2 Uji Kadar Air Secara Termogravimetri

Pada penentuan kadar air, cawan porselen disiapkan, lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Cawan disimpan dalam desikator sekitar 20 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Kemudian 5 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen dan dimasukkan dalam oven pada suhu 105°C selama 15 menit. Sampel kemudian disimpan dalam desikator sekitar 20 menit dan ditimbang, sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan (Azizah, 2016).

Kadar air dapat dihitung menggunakan persamaan (3.1) dan faktor koreksi dapat dihitung menggunakan persamaan (3.2).

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

Dengan *a* adalah Bobot cawan kosong, *b* bobot sampel+cawan sebelum dikeringkan *c* bobot cawan+sampel setelah dikeringkan

$$Faktor\ Koreksi = \frac{100}{(100-\%\ kadar\ air)} \quad \text{.....(3.2)}$$

Sedangkan untuk % kadar terkoreksi dihitung menggunakan persamaan (3.3).

% kadar terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi……..(3.3)

3.5.3 Ekstraksi dengan Ultrasonik

Ekstrak pada bekatul menggunakan metode ultrasonic bath dengan variasi pelarut dan lama waktu ekstraksi. Sebanyak 5 gram masing-masing dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 ml, kemudian masing-masing Erlenmeyer diberi pelarut etanol dengan lama ekstraksi 20 menit (E1 20), etanol dengan lama ekstraksi 25 menit (E1 25), etanol dengan lama ekstraksi 30 menit (E1 30), pelarut etil asetat dengan lama ekstraksi 20 menit (E2 20), etil asetat dengan lama ekstraksi 25 menit (E2 25), etil asetat dengan lama ekstraksi 30 menit (E2 30), dan pelarut n-heksana dengan lama ekstraksi 20 menit (E3 20), n-heksana dengan lama ekstraksi 25 menit (E3 25), n-heksana dengan lama ekstraksi 30 menit (E3 30). sebanyak 50 mL dengan perbandingan 1:10. Kemudian dimasukkan ke dalam ultrasonik bath dengan frekuensi 20 kHz pada suhu kamar. Hasil ekstraksi yang berupa larutan disaring sehingga didapat filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dari masing-masing pelarut kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60ºC. Masing-masing eksktrak tersebut ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan (3.4) (Hendrayani, 2015).

$$\% \text{ rendemen} = \frac{Berat\ Ekstrak}{Berat\ Sampel} \text{ x } 100\% \quad \text{.....(3.4)}$$

Ekstrak bekatul dari ketiga pelarut kemudian dimasukkan ke dalam botol ekstrak dan dilakukan beberapa uji yang meliputi uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach., dan uji senyawa aktif.

3.5.4 Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach.)

Telur *A.salina* Leach sebanyak 2,5 mg dimasukkan dalam 250 ml air laut dalam botol penetasan. Selanjutnya diaerasi selama ± 48 jam dan larva udang yang menetas siap digunakan untuk uji toksisitas.

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada masing-masing ekstrak sampel. Ekstrak heksana, etil asetat dan etanol dari bekatul masing-masing ditimbang sebanyak 100 mg dan dilarutkan menggunakan pelarutnya masing-masing sebanyak 10 mL. Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 1000, 500, 200, 100, 50, dan 25 µL, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Selanjutnya dimasukkan 100 µL dimetil sulfoksida, setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok sampai ekstrak dapat larut dalam air laut. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL sehingga konsentrasinya masing-masing larutan menjadi 1000, 500, 200, 100, 50, 25 ppm.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pembuatan kontrol dengan dimasukkan 1 mL masing-masing pelarut dan diuapkan hingga kering kemudian ditambah 100 µL dimetil sulfoksida (DMSO), setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut. Larutan dipindahkan alam labu ukur 10 mL, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang Artemia salina dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam terhadap kematian larva udang *Artemia salina* L (Inayah, 2012).

3.5.5 Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Uji Reagen

Uji Kandungan senyawa aktif dilakukan dengan uji fitokimia untuk mengetahui ada tidaknya komponen-komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak. Ekstrak dilarutkan dengan sedikit pelarutnya kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid (Halimah, 2010).

3.5.5.1 Uji Alkaloid

Ekstrak kasar bekatul dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg, ditambah 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Meyer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid (Halimah, 2010).

3.5.5.2 Uji Flavonoid

Ekstrak kasar bekatul dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg, kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50 %. Setelah itu ditambah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid (Halimah, 2010).

3.5.5.3 Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak kasar bekatul dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg, dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambah dengan 1-2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Halimah, 2010).

3.5.5.4 Uji Saponin

Ekstrak kasar bekatul dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg dan ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 N, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Halimah, 2010).

3.5.5.5 Uji Tanin

Ekstrak kasar bekatul masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mg dan ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan $FeCl_3$ 1 %. Jika larutan menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru tinta, maka bahan tersebut mengandung tanin (Halimah, 2010).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.6 Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
3.6.1 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik (KLTA)

Identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan plat silika gel F_{254}. Plat disiapkan dengan ukuran 1cm x 10cm menggunakan pensil, penggaris dan *cutter*. Selanjutnya plat diberi garis batas dengan jarak 1cm pada bagian bawah plat dan 1cm dari tepi atas plat menggunakan pensil. Plat silika gel F_{254} diaktivasi terlebih dahulu di dalam oven pada suhu 100^{o}C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat.

Ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm ditotolkan (10 totolan) pada jarak 1cm dari tepi bawah plat silika gel F_{254} menggunakan pipa kapiler. Dikeringkan dengan *hairdryer* dan dielusi dengan masing-masing fase gerak ini dilakukan penjenuhan terlebih dahulu dalam suatu bejana tertutup agar tekanan uap pada seluruh bagian bejana sama. Eluen yang digunakan etil asetat : n-heksana (2:8) Plat dimasukan ke dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan dan diletakkan pada jarak setinggi ±1cm dari dasar plat. Selanjutnya *great chamber* ditutup rapat hingga fase geraknya mencapai jarak ±1cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikering anginkan.

Noda atau bercak pada permukaan palt diamati dengan lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Selanjutnya diamati masing-masing noda yang terbentuk, meliputi jumlah noda, warna noda dan jarak perpindahan noda dari tempat asalnya, dan dihitung nilai R_f nya (Ulfa, 2016).

3.6.2 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT preparatif (KLTP)

Pemisahan KLT preparatif menggunakan plat KLT F_{254} dengan ukuran yaitu 10 x 20 cm. ekstrak bekatul ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

garis bawah. Selanjutnya dikering anginkan dan ditotolkan kembali ekstrak sampai 10 kali penotolan. Eluen yang digunakan pada pemisahan KLT preparatif adalah etik astat : n-heksana (2:8). Elusi dihentikan ketika gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas. Plat hasil elusi dikeringkan, noda yang terbentuk diamati dengan lampu UV pada panjang gelombang maksimun 366 nm dan dihitung nilai *Rf*nya (Ulfa, 2016).

3.7 Analisis Data

Uji toksisitas menghasilkan data berupa angka kematian dari Larva Udang (*Artemia salina* Leach.). Angka kematian tersebut kemudian diolah untuk mendapatkan nilai toksisitas dengan metode analisis probit menggunakan program statistik SPSS 20 dengan tingkat kepercayaan 95%. Nilai toksisitas yang dimaksud adalah nilai LC_{50} yang menunjukkan nilai konsentrasi yang dapat.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 3.1 Jenis eluen dan pendeteksi masing-masing golongan senyawa aktif alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan steroid.

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Alkaloid	1. Kloroform:metanol (9:1) (Idrus, 2011) 2. Kloroform:metanol (9:1) (aksara, 2013) 3. Kloroform:metanol (9,5:0,5) (Hayati, 2012) 4. Kloroform:metanol (95:5) (Mursiti, 2013) 5. etil asetat:metanol:air (100:16,5:13,5)	Pereaksi Dragendorff	1. Jingga 2. Jingga 3. Jingga 4. Biru 5. Hijau kekuningan
Flavonoid	1. Kloroform:etil asetat (60:40) (Marliana, 2005) 2. Butanol:asam asetat:air(3:1:1) (Marliana,2005) 3. n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Sitorus, dkk., 2012) 4. n-heksana:etil asetat (8:2) (Jayanti, dkk.,2012) 5. kloroform:metanol:air (9,7:0,2:0,1) (Fitriyani, dkk., 2011)	Diuapi dengan amoniak	1. Kuning 2. Biru 3. Hijau tua 4. Lembayung gelap 5. Kuning
Triterpenoid	1. Kloroform:metanol:etil asetat (20:60:10) (Ermawati, 2013) 2. Etanol:air (7:1) (Rita, 2010) 3. n-heksana:etil asetat (2:8) (Hayati dan Himmah, 2010) 4. n-heksana:etil asetat (8:2) (Reveny, 2011) 5. kloroform:metanol (4,7:0,3) (Nadia, 2012)	Pereaksi Liebermann-Burchard	1. Coklat 2. Merah kekuningan 3. Merah keunguan 4. Merah keunguan 5. Ungu muda
Steroid	1. n-heksana:etil asetat (8:2) (al-Quais, 2015) 2. n-heksana:etil asetat (7:3) (Hayati, dkk., 2012) 3. sikloheksana:etil asetat (1:1) (Harbome, 1987) 4. sikloheksana:etil asetat (6:4) (Tsaniyah, 2013) 5. kloroform:metanol (3:7) (Gunawan, dkk., 2008)	Pereaksi Liebermann-Burchard	1. Hijau 2. Hijau 3. Jingga 4. Hijau kebiruan 5. Ungu muda

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 3.2 Jenis eluen dan pendeteksi masing-masing golongan senyawa aktif saponin dan tanin.

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Saponin	1. kloroform:metanol:air (20:60:10) (Kristianingsih, 2005)	H_2SO_4	1. Ungu gelap
	2. kloroform:metanol:air (3:1:0,1) (Ernawati, 2013)	Pereaksi Liebermann-Burchard H_2SO_4	2. Biru
	3. kloroform:metanol:air (20:60:10) (Kristianingsih, 2005)		3. Hijau
	4. kloroform:metanol:air (13:7:2) (Suharto,dkk., 2009)		4. Hijau
	5. n-heksana:aseton (4:1)		5. Hijau
Tanin	1. Kloroform:metanol:air (7:3:0,4) (Fitriyah,dkk., 2011)	Pereaksi $FeCl_3$	1. Hitam
	2. n-heksana:etil asetat (6:4) (Manguwardoyo, 2010)		2. Hijau kekuningan
	3. asam asetat glasial:air:HCl pekat (30:10:3) (Sriwahyuni, 2010)	$AlCl_3$ 1%	3. Lembayung
	4. n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Hayati, dkk., 2010)		4. Coklat kehijauan
	5. n-butanol:asam asetat:air (2:0,5:1,1) (Yuli, 2006)		5. Lembayung

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

PEMBAHASAN

Bekatul memiliki berbagai macam senyawa yang terkandung didalamnya. Oleh karena itu, bekatul memiliki berbagai potensi salah satunya sebagai pestisida. Pada penelitian bekatul ini menggunakan ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan lama ekstraksi, uji aktivitas toksisitas dengan metode BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test)*, uji fitokimia dengan reagen dan pemisahan senyawa aktif (KLT).

4.1 Preparasi Sampel

Bekatul beras putih yang digunakan berasal dari desa Ketetang kecamatan Kwanyar Bangkalan. Proses pengayakan bekatul menggunakan ayakan berukuran 40 mesh, tujuan pengayakan untuk memperluas permukaan sampel sehingga mempermudah kelarutan komponen bioaktif. Semakin kecil ukuran serbuk maka semakin besar luas permukaan sampel sehingga interaksi antara pelarut dengan sampel akan semakin besar (Banjar, 2008). Proses ekstraksi dengan ultrasonik akan semakin efektif dan senyawa aktif yang terekstrak semakin banyak, hal ini dikarenakan tegangan mekanik yang menghasilkan perambatan gelombang ultrasonik mengenai sampel, sehingga sampel akan menjadi partikel kecil dan gelembung yang akan memecah dinding sel sehingga pelarut akan terdifusi dalam sel dan senyawa aktif akan keluar dan terkstraksi. Hasil dari preparasi dapat dilihat pada Gambar 4.1.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Gambar 4.1 Sampel bekatul

4.2 Analisis Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan dengan menggunakan metode thermogravimetri yaitu pemanasan dengan metode modifikasi Helrich (1984). Metode dengan penguapan air yang ada didalam sampel pada suhu 100-105°C. Cawan porselen kosong dipanaskan pada suhu 105-110°C selama 15 menit supaya kandungan air dalam cawan hilang, kemudian didesikator selama 20 menit untuk mengindari penyerapan kelembapan udara oleh cawan. Perlakuan tersebut diulang sampai mendapat berat cawan yang konstan. Kadar air pada sampel bekatul yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh sebesar 8,069% *(b/b)*. Kadar air tersebut cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi secara maksimal dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup panjang. Kadar air yang kurang dari 10% *(b/b)* dapat menghentikan reaksi enzimatis yang dapat menguraikan senyawa aktif (Ditjen POM, 1985). Menurut Kumala (2007) semakin kecil kadar air suatu sampel, maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh rendemen semakin besar.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.3 Ekstraksi Bekatul dengan Ultrasonik

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode ultrasonik dengan pelarut etanol, etil asetat dan *n*-heksana dengan lama ekstraksi yaitu 20, 25 dan 30 menit. Masing-masing dari ketiga pelarut memiliki sifat kepolaran yang berbeda-beda dengan waktu ekstraksi yang berbeda bertujuan untuk mengoptimalkan hasil.

Filtrat hasil penyaringan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 60ºC, suhu yang digunakan lebih kecil dari suhu titik didihnya karena pelarut sudah dapat menguap dengan penurunan tekanan yang dibantu pompa vakum. Perhitungan rendemen dapat dilihat dalam lampiran 4.2 hasil rendemen ekstraksi ultrasonik dirangkum pada Table 4.1.

Table 4.1 Hasil rendemen ekstrak bekatul

Ekstrak	Rendemen (%)
E1 20	18,159
E1 25	19,132
E1 30	18,280
E2 20	8,302
E2 25	7,282
E2 30	9,18
E3 20	7,815
E3 25	7,125
E3 30	7,279

Keterangan: E1 20=etanol 20 menit ; E1 25=etanol 25 menit ; E1 30=etanol 30 menit ; E2 20=etil asetat 20 menit ; E2 25=etil asetat 25 menit ; E2 30=etil asetat 30 menit ; E3 20=*n*-heksana 20 menit ; E3 25=*n*-heksana 25 menit ; E3 30=*n*-heksana 30 menit.

Tabel nilai rendemen variasi lama ekstraksi tidak terlalu berpengaruh terhadap hasil rendemen, hal ini dikarenakan rentang lama ekstraksi tidak terlalu jauh sehingga mempengaruhi hasil rendemen. Pelarut etanol stabil pada ekstraksi 25 menit karena pada ekstraksi 30 menit nilai rendemen menurun sehingga

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

seyawa yang terekstrak menjadi tidak stabil. Pada pelarut etil asetat stabil pada ekstraksi 30 menit, sehingga rendemen tinggi dan senyawa yang terekstrak lebih banyak/stabil dibandingkan ekstraksi 20 dan 25 menit yang cenderung tidak stabil dengan turunnya rendemen. Pada pelarut *n*-heksana stabil pada ekstraksi 20 menit karena pada ekstraksi 25 dan 30 menit nilai rendemen naik turun, hal tersebut menyebabkan senyawa yang terekstrak menjadi tidak stabil/rusak.

Pelarut yang memiliki tekanan uap tinggi dan tegangan permukaan rendah menyebabkan sukarnya pembentukan kavitasi sehingga proses ekstraksi tidak berlangsung secara optimal, sedangkan pelarut yang memiliki viskositas rendah dapat dengan mudah meresap dalam pori dinding sel tanaman (Mason, 1990). Pada variasi pelarut mempengaruhi hasil rendemen ekstrak yang dihasilkan dikarenakan berbedanya tingkat kepolaran setiap pelarut. Wang, dkk. (2008) mengatakan bahwa nilai rendemen hasil ekstraksi ultrasonik lebih tinggi dibanding motode ekstraksi maserasi dikarenakan dalam proses sonikasi dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu tekanan uap, tegangan permukaan, dan medium viskositas. Hasil penelitian menunjukkan nilai rendemen tertinggi pada pelarut etanol karena senyawa yang ada pada pada ekstrak bekatul cenderung memiliki polaritas yang sama dengan etanol. Hal ini sesuai dengan prinsip ekstraksi yaitu mengekstrak senyawa aktif (metabolit sekunder) yang dapat larut berdasarkan tingkat kepolarannya atau dikenal dengan istilah "*like dissolve like*" (Khopkar, 2003)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.4 Uji Toksisitas Menggunakan Larva Udang *(Artemia salina* l.*)*

4.4.1 Penetasan Larva Udang

Penetasan larva udang dilakukan dengan menyiapkan bejana yang berisi air laut digunakan sebagai media tumbuh *Artemia salina*. Lampu diletakkan diatas bejana sebagai penghangat suhu selama penetasan dan aerasi selama 48 jam. Larva A*rtemia salina* dapat digunakan sebagai hewan uji toksisitas saat berumur 48 jam dikarenakan pada umur tersebut organ-organ tubuh larva sudah terbentuk lengkap. Untuk keberlangsungan hidup larva, ragi roti digunakan sebagai bahan makanan yang sudah dilarutkan dalam air laut. Larva udang digunakan untuk mengetahui residu pestisida, anastetik local (Hamburger dan Hostettman, 1992) dan juga larva udang memiliki kesamaan tanggapan dengan mamalia seperti tipe DNA-*dependent* RNA *polymerase* (DNA yang mengarahkan proses transkripsi RNA) (Panjaitan, 2011).

4.4.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan menguapkan masing-masing ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Kontrol yang digunakan yaitu kontrol pelarut yang berisi masing-masing pelarut yang telah diuapkan. Masing-masing konsentrasi dan kontrol digunakan 10 larva. Untuk memastikan masing-masing ekstrak larut dalam media uji yang berisi air laut, maka dilakukan penambahan DMSO yang berfungsi sebagai surfaktan. Pengamatan terhadap kematian larva dilakukan setelah 24 jam. Hasil pengamatan kematian larva udang dirangkum pada Tabel 4.2.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.2 Hasil pengamatan kematian larva udang

Konsentrasi (ppm)	E1 20	E1 25	E1 30
0*	0	0	0
25	1	0	0
50	1	0	0
100	1	0	1
200	1	0	1
500	3	0	1
1000	9	10	3

Konsentrasi (ppm)	E2 20	E2 25	E2 30
0*	0	0	0
25	0	0	3
50	0	0	2
100	0	2	1
200	2	1	1
500	1	1	2
1000	5	6	9

Konsentrasi (ppm)	E3 20	E3 25	E3 30
0*	0	0	0
25	1	1	2
50	1	1	2
100	2	1	1
200	1	1	1
500	2	7	2
1000	10	7	9

0*: kontrol pelarut

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa pelarut etanol dan *n*-heksana ekstraksi 20 menit dan pada konsentrasi 25 ppm sudah dapat membunuh larva dibanding pelaurt etil asetat yang mampu membunuh pada konsentrasi 200 ppm. Hal ini

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dikarenakan senyawa yang terekstrak pada pelarut *n*-heksana memiliki potensi toksik terhadap larva tersebut. Senyawa dugaan yang menyebabkan toksik adalah steroid karena sennyawa tersebut lebih dominan dibanding senyawa lainnya. Selanjutnya dari data tersebut di analisa nilai LC_{50} dengan analisa probit menggunakan SPSS 20. LC_{50} (Lethal Concentration 50%) merupakan nilai dosis dimana senyawa dapat membunuh 50% dari hewan uji. Proses kematian larva udang disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang bersifat toksik. Masuknya metabolit sekunder dalam larva udang dapat mengganggu metabolisme tubuh (Meyer, dkk., 1982). Hasil perhitungan nilai LC_{50} dapat dirangkum pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil uji toksisits menggunakan metode BSLT

Lama Ekstraksi (menit)	LC_{50} (ppm)
E1 20	613,258
E1 25	673,210
E1 30	2217,255
E2 20	1161,398
E2 25	1170,774
E2 30	701,532
E3 20	592,901
E3 25	617,425
E3 30	695,198

Maisng-masing ekstrak memiliki sifat toksik kecuali ekstrak etil asetat dengan lama ekstraksi 25 dan 30 menit tidak memiliki sifat toksik karena nilai LC_{50} >1000 ppm. Menurut Ayuningtyas (2010) menurunnya nilai LC_{50} dikarenakan menurunnya sifat toksik dari senyawa metabolit sekunder karena cenderung tidak stabil atau rusak akibat adanya panas yang ditimbulkan dari proses kavitasi. Pada Table hasil uji toksiistas pelarut etanol semakin lama waktu

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ekstraksi nilai LC_{50} semakin tinggi hal ini dikarenakan semakin lama waktu ekstraksi nyawa yang terekstrak kurang stabil/sedikit. Sedangkan pada pelarut etil asetat semakin lama waktu ekstraksi nilai LC_{50} semakin kecil hal ini disebabkan semakin banyak senyawa aktif yang terekstrak stabil sehingga pada ekstrak 30 menit berpotensi toksik. Pada ekstrak *n*-heksana nilai LC_{50} relatif sama, hal ini menandakan bahwa waktu ekstraksi tidak berpengaruh terhadap senyawa aktif yang dipisahkan.

Pada penelitian ini nilai LC_{50} yang bersifat lebih toksik terdapat pada ekstrak heksana menit ke 20 yaitu 592,901 ppm. Hal ini dikarenakan senyawa yang yang terekstrak pada bekatul dengan pelarut non-polar memiliki tingkat toksik yang lebih tinggi, seperti steroid dan triterpenoid dibanding senyawa polar yaitu senyawa flavonoid yang memiliki tingkat toksik yang rendah. Semakin kecil nilai LC_{50} semakin tinggi toksisitasnya. Menurut McLaughin (1991) nilai LC_{50} 200-1000 ppm ekstrak berpotensi sebagai pestisida, sehingga pada penelitian ini dapat dikategorikan sifat toksik berpotensi sebagai pestisida. Nilai ini menunjukan bahwa pada konsentrasi tersebut, ekstrak heksana mampu membunuh larva udang sampai 50% populasi.

4.5 Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Reagen

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif metabolit sekunder yang terkandung dalam sampel. Golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji berupa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, tannin, saponin. Hasil uji fitokimia ekstrak bekatul dirangkum pada Tabel 4.4.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol, etil asetat dan n-hekasana mengandung senyawa triterpenoid dan steroid. Senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kekuningan, sedangkan senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh ulfa (2016) bahwa pengujian fitokimia ekstrak bekatul menghasilkan senyawa fenolik, steroid dan triterpenoid.

Tabel 4.4 Hasil uji fitokimia reagen ekstrak bekatul.

Ekstrak	Golongan Senyawa Aktif						
	Alkaloid		Flavo noid	Steroid	Triterpe noid	Tannin	Saponin
	Dragen dorf	Meyer					
E1 20	-	-	-	+	++	-	-
E1 25	-	-	-	++	++	-	-
E1 30	-	-	-	+	++	-	-
E2 20	-	-	-	+	++	-	-
E2 25	-	-		+	+	-	-
E2 30	-	-	-	++	+	-	-
E3 20	-	-	-	+	+	-	-
E3 25	-	-	-	+	+	-	-
E3 30	-	-	-	++	+	-	-

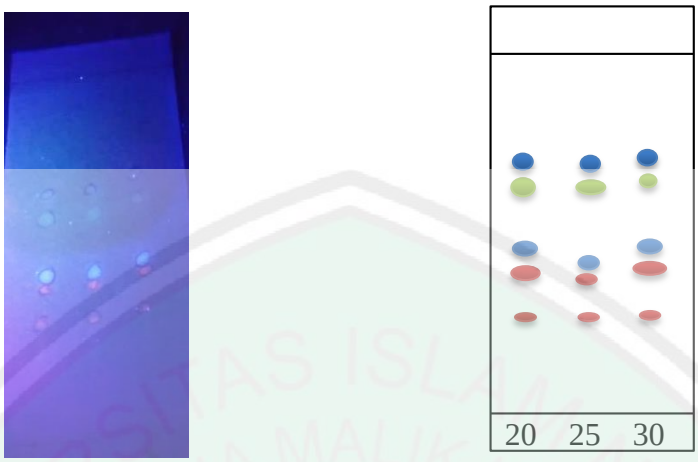
Keterangan : Tanda + : terkandung senyawa/warna muda
Tanda ++ : terkandung senyawa lebih/ warna pekat
Tanda - : tidak terkandung senyawa

4.6 Pemisahan Senyawa Aktif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Pemisahan golongan senyawa aktif menggunakan KLTA dengan silika yang dilapiskan plat aluminium sebagai fasa diam dan eluen heksana:etil asetat (8:2) sebagai fasa gerak yang dijenuhkan terlebih dahulu selama 1 jam. Penggunaan eluen tersebut merupakan eluen terbaik berdasarkan penelitian Ulfa (2016) yang telah melakukan variasi eluen untuk memisahkan senyawa dari ekstrak bekatul.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil pemisahan KLTA dibawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil KLTA eluen *n*-heksan:etil asetat (8:2) (a) hasil KLTA (b) ilustrasi gambar

Hasil KLTA menunjukkan 5 noda dengan nilai R_f yang berbeda juga. Perbedaan ini karena adanya perbedaan struktur dan distribusi senyawa terhadap fasa gerak dan fasa diam. Senyawa yang memiliki nilai distribusi yang besar maka akan tertahan (terdistribusi) dalam fasa diam sehingga memiliki nilai R_f yang kecil. Sedangkan senyawa yang memiliki nilai distribusi kecil makan akan terdistribusi dalam fasa gerak sehingga nilai R_f senyawa tersebut besar. Hasil identifikasi ekstrak bekatul dirangkum pada Tebel 4.5.

Hasil KLT menunjukkan adanya senyawa polar yaitu flavonoid yang ditandai dengan munculnya warna biru saat bawah lampu UV 366 nm dan senyawa non polar yaitu steroid dan triterpenoid yang ditandai warna hijau/hijau kebiruan dan merah. Perbedaan warna ini dikarenakan setiap senyawa memiliki panjang gelombang yang berbeda sehingga absorbansi juga berbeda oleh karena itu pada panjang gelombang 366 nm flavonoid berwarna biru, steroid berwarna hijau dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

triterpenoid berwarna merah. Pada uji fitokimia senyawa golongan polar tidak tampak hal ini dikarenakan uji fitokimia merupakan tahapan awal untuk mengidentifikasi kandungan senyawa pada sampel sehingga diperlukan uji lanjut yaitu Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk memisahkan senyawa (metabolit sekunder) campuran menjadi senyawa murni.

Tabel 4.5 Hasil identifikasi ekstrak bekatul dibawah lampu UV 366nm dengan eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2)

Ekstrak	Jumlah Noda	R_f	Warna	Dugaan Senyawa
heksana 20 menit	5	0,275	Merah	Triterpenoid
		0,3375	Merah	Triterpenoid
		0,4	Biru	Flavonoid
		0,55	Hijau	Steroid
		0,6125	Biru	Flavonoid
heksana 25 menit	5	0,275	Merah	Triterpenoid
		0,35	Merah	Triterpenoid
		0,3875	Biru	Flavonoid
		0,55	Hijau	Steroid
		0,6125	Biru	Flavonoid
heksana 30 menit	5	0,2875	Merah	Triterpenoid
		0,375	Merah	Triterpenoid
		0,4125	Biru	Flavonoid
		0,5875	Hijau	Steroid
		0,65	Biru	Flavonoid

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.7 Pemisahan Golongan Senyawa Steroid dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

KLTP dilakukan untuk mendapatkan isolat senyawa aktif menggunakan plat berukuran 10x20 cm. Elusi menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2). Hasil pemisahan KLTP dan nilai Rf eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2) dirangkum pada Gambar 4.3-4.5 dan Tabel 4.6.

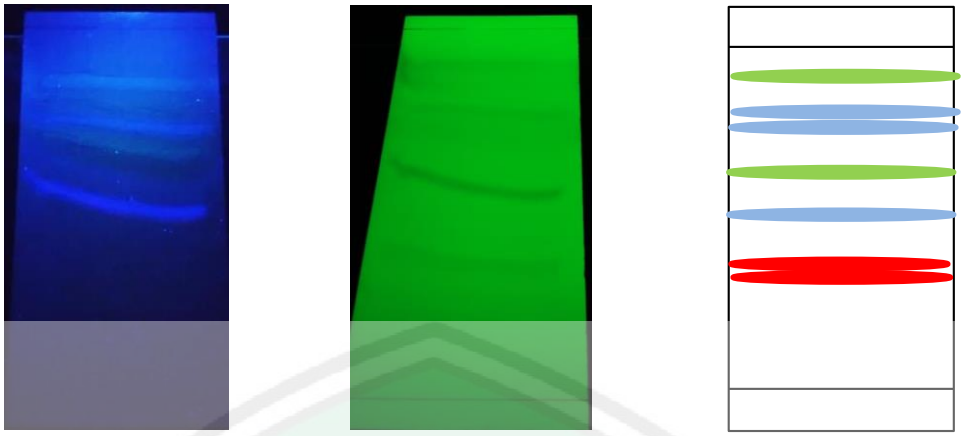
(a) (b) (c)

Gambar 4.3 Hasil KLTP ekstraksi *n*-heksana 20 menit diidentifikasi dibawah sinar ultraviolet (a) 336 nm (b) 254 nm (c) ilustrasi.

(a) (b) (c)

Gambar 4.4 Hasil KLTP ekstraksi *n*-heksana 25 menit diidentifikasi dibawah sinar UV (a) 336 nm (b) 254 nm (c) ilustrasi.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



(a) (b) (c)

Gambar 4.5 Hasil KLTP ekstraksi *n*-heksana 30 menit diidentifikasi dibawah sinar UV (a) 336 nm (b) 254 nm (c) ilustrasi.

Hasil pemisahan KLTP pada eluen *n*-heksan : etil asetat (8:2) diperoleh 6 noda pada ekstraksi 20 menit, 7 noda pada ekstrak ke 25 dan 30 menit. Dugaan senyawa steroid yaitu isolat berwarna hijau dan biru yang terdapat 3 spot pada ekstraksi 20 menit, 5 spot pada ekstraksi 25 menit dan 5 spot pada ekstraksi 30 menit. Sedangkan dugadaan senyawa triterpenoid yaitu berwarna merah terdapat 2 spot pada masing-masing ekstraksi (20, 25 dan 30 menit). Dugaan tersebut berdasarkan yang dihasilkan dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Ekstrak non polar mengandung golongan asam lemak, steroid, serta karotenoid. Pelarut heksan yang bersifat non-polar melarutkan lemak dan mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non-polar seperti asam lemak, sterol, kumarin, dan beberapa terpenoid (Liu, 2010). Oleh karena itu pada pemisahan KLTP ini pelarut heksana munculnya senyawa steroid ditandai dengan warna hijau dan merah. Azizah (2016) juga dengan eluen yang sama mengatakan senyawa steroid ditandai dengan isolat berwarna hijau, sedangkan triterpenoid berwarna merah. Al-Quais (2015) melakukan identifikasi senyawa steroid dari rumput bambu dengan menggunakan eluen yang sama, di dapatkan penampak noda berwarna

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

hijau saat disinari UV 366 nm. Harborne (1987) menyatakan steroid dapat dideteksi dengan sinar UV berupa warna hijau dan flavonoid berwarna biru.

Table 4.6 Hasil kromatografi lapis tipis preparatif ekstrak bekatul menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (8:2)

Ekstraksi	R_f	Warna noda dibawah sinar UV	Dugaan Senyawa
heksana 20 menit	0,5444	Merah	Triterpenoid
	0,6222	Biru	Flavonoid
	0,6778	Merah	Triterpenoid
	0,7333	Hijau	Steroid
	0,8333	Hijau	Steroid
	0,9243	Biru	Flavonoid
heksana 25 menit	0,3167	Merah	Triterpenoid
	0,5278	Hijau	Steroid
	0,6056	Merah	Triterpenoid
	0,6889	Hijau	Steroid
	0,7333	Hijau	Steroid
	0,8056	Biru	Flavonoid
	0,85	Biru	Flavonoid
heksana 30 menit	0,5444	Merah	Triterpenoid
	0,4778	Merah	Triterpenoid
	0,6444	Biru	Flavonoid
	0,7056	Hijau	Steroid
	0,7556	Biru	Flavonoid
	0,8278	Biru	Flavonoid
	0,8722	Hijau	Steroid

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.8 Pemanfaatan Bekatul dalam Perspektif Agama Islam

Kekuasaan Allah Swt yang begitu besar bagi makhluk hidup yang ada di bumi merupakan suatu tanda bagi mereka tentang adanya sang Maha pencipta. Allah Swt memberikan hikmah atas segala penciptaan alam semesta supaya manusia beribadah kepada Allah Swt dengan mengingatNya, memikirkan tentang penciptaanNya serta bersyukur kepadaNya. Allah Swt berfirman dalam al-Qur'an surat Luqman [31] ayat 10:

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَىٰ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۚ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

"*Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik".* Q.S Luqman [31] : 10.

Kata tumbuhan pada ayat di atas menggunakan kata "زَوْجٍ كَرِيمٍ" menunjukkan arti tumbuhan-tumbuhan yang baik yaitu subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Menurut Nadiah (2014) semakin tinggi posisi tanah, maka semakin berkurang pula kandungan air tanahnya dan semakin bagus kualitasnya untuk mencapai pertanian yang baik. Oleh karena itu bekatul termasuk tumbuh-tumbuhan yang baik karena memiliki kadar air yang cukup baik yaitu 8,069%. Ash Shiddieqy (2000) menafsirkan bahwa dari tanah yang subur itulah tumbuh beraneka tumbuhan yang memiliki banyak manfaat. Tanaman yang mudah menyesuaikan diri pada kondisi ini adalah padi. Bekatul merupakan hasil samping dari proses penggilingan padi menjadi beras. Bekatul mengandung asam amino yang lebih tinggi dibandingkan beras (Balai Besar Pelatihan Pertanian, 2013). Allah SWT berfirman dalam surat al Furqan ayat 2:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

"Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagiNya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya" Q.S al Furqan : 2.

Kata "فَقَدَّرَهُ تَقْدِيرًا" dalam tafsir Al-Mishbah menunjukkan bahwa Allah SWT memberikan ukuran dan aturan yang sangat cermat kepada masing-masing secara sistematis (Shihab, 2002). Setiap makhluk mengandung unsur-unsur dan membentuk senyawa-senyawa yang sesuai dengan manfaatnya. Bekatul mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti steroid dan triterpenoid yang dapat digunakan dalam bidang farmatologi. Pemisahan senyawa steroid dan triterpenoid dapat dimaksimalkan dengan penelitian. Allah SWT berfirman dalam surat al-Kahfi ayat 30:

إِنَّ الَّذِينَ آمَنُوا وَعَمِلُوا الصَّالِحَاتِ إِنَّا لَا نُضِيعُ أَجْرَ مَنْ أَحْسَنَ عَمَلًا

"Sesungguhnya mereka yang beriman dan beramal saleh, tentulah Kami tidak akan menyia-nyiakan pahala orang-orang yang mengerjakan amalan(nya) dengan yang baik." Q.S al Kahfi : 30.

Berdasarkan tafsir al-Muyassar karangan Hikmat Basyir (2012) orang-orang yang beramal saleh adalah orang-orang yang telah berbuat kebajikan. Amal saleh merupakan perbuatan baik dan benar yang sesuai dengan sunnatullah. Sunnatullah dibagi menjadi dua yaitu sunnah Allah SWT yang diwahyukan dan yang tidak diwahyukan (bin Aziz al-Zindani, dkk., 1997). Salah satu sunnah Allah SWT yang tidak dapat diwahyukan dapat dipelajari manusia dengan cara memperhatikan alam dan melakukan eksperimen. Penelitian merupakan bentuk

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

amalan saleh dari sunnatullah yang tidak diwahyukan. Penelitian dapat menghadirkan ilmu pengetahuan dan teknologi yang bermanfaat.

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan acuan pemanfaatan bekatul. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui variasi pelarut dan waktu terbaik pada ekstraksi ultrasonik dan juga mengetahui nila LC_{50} dari masing-masing. Pada penelitian ini diketahui bahwa pelarut terbaik untuk ekstraksi adalah etanol sedangkan nilai LC_{50} ekstrak heksana lebih berpotensi sebagai sitotoksik.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Uji toksisitas terbaik terdapat pada ekstrak bekatul menggunakan pelarut heksana dengan lama ekstraksi 20 menit yaitu 592,901 ppm.
2. Ekstrak bekatul uji toksisitas terbaik teridentifikasi golongan senyawa flavonoid, steroid dan triterpenoid.

5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut disarankan untuk menggunakan Lup saat menghitung larva dan identifikasi lebih lanjut pada ekstrak bekatul dengan metode ultrasonik menggunakan instrument FTIR, UV-vis kemudian dilakukan uji aktivitas lain seperti antikanker, antibakteri.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Abubecker, M.N. and T. Deepalakshami. 2013. In Vitro Antifungal Potentials of Bioactive Compound Methyl Ester of Hexadecanonic Acid Isolated from Annona muricata Linn. Leaves. *Journal of Biosciences Biotechnology Research Asia* 10 (2): 879-884.

Adom, KK dan Liu, RH. 2002. Antioxidant activity of Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (21): 6182-6187.

Al Faran, A.b.M. 2007. *Menyelami Kedalaman Kandungan Al-Qur'an Tafsir Imam Syafi'i.* Jakarta : Almahira.

Al-Jazairi, S.A.B.J. 2009. Tafsi Al-Quran Al-Aishar jilid *6*.Jakarta: Drus Sunnah.

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

Anna Poedjiadi dan F.M. Titin Supriyanti. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.

Ash-Shiddiqie, M. Hasbi dan Teungku. 2000. *Tafsir Al-Quranul Majid An-Nuur.* Semarang: Pustaka Rizki Putra.

Astuti, P., Alam, G., Ilartati, M.S., Sari, D., dan Wahyuono, S. 2005. Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid dari *Spons Petrosia sp.* Potensial Pengembangan Sebagai Antikanker. *Majalah Farmasi Indonesia*. 16 (1): 58-62.

Azizah, 2016. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Yang Toleran Terhadap *Insektisida Chlorpyrifos* dan Fungisida *Mancozeb* Pada Tanah Pertanian Toad di Desa Kutabawa, Kecamatan Karang Reja, Kabupaten Purbalingga. S*kripsi.* Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Azizah, Laili Nur. 2016. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kltp Fraksi Petroleum Eter Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Alga Merah (*Eucheuma spinosum). Skripsi.* Malang. UIN Maulana Malik Ibrahim.

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapenen Pertanian. 2007. *Mengelolah Dedak Menjadi Minyak (Rice Bran Oil)*. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 29(4).

Chanphrom, P. 2007. Antioxidants and Antioxidan activities of Pigmented Rice Varieties and Rice Bran. *Thesis*. Thailand: Faculty of Gratuated Studeis, Mahidol University.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Chen, M.H dan Bargmen, C.J. 2005. A Rapid For Analysing Rice Bran Tocopherol, Tocotrienol, and γ-Orizanol Contens. *Journal Food Compos analisys*. 18: 139-151.

Departemen Kesehatan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan. 1985. *Analisis Obat Tradisional.* Jakarta.

Dewi, N.A. 2011. Potensi Ekstrak Daun Rambutan (Naphelium lappaceum L.) sebagai pembasmi larva nyamuk Culex pipiens. *Skripsi*. Samarinda: Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman.

Djajadisastra. 2007. Penapisan Komponen Aktibakteri dan Uji Toksisitas dari Spons Perairan Taka Bonerate Sulawesi Selatan. *Skripsi*. Bandung: IPB.

Erliza, N., 2006. Ekstraksi Giberalin dari Akar Eceng Gondok. *Skripsi*. Bandung Fakultas Kehutanan: ITB.

Farihah. 2006. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus benjamina L terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Fattah. A.b.A.b.A. 2010. Shahih Thibbun Nabawi : *Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Jakarta : Pustaka Imam Ahmad.

Fauzi, M.F. 2017. Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang(Artemia salina Leach.) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Akar dan Daun Bakau Merah (Rhizophora stylosa). *Skripsi*. Malang : Universitas Islam Negeri.

Finney, D.J., 1971, *Probit Analysis, 3rd Ed*. Cambridge University Press. Great Britain.

Gandjar, I. G. & Rohman, A., 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta. 323-346.

Ganiswarna, S. 1995. *Farmakologi dan Terapi, edisi IV*. Jakarta: Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Gunawan, IW.G., Gede Bawa, IG.A., dan Sutrisnayati, N.L. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa tepenoid yang aktif antibakteri pada Herba Meniran (*phyllanthus niruri linn*). *Journal of Chemistry*, 1 (2): 31-39.

Hadipermata, 2007. Mengelola Dedak Menjadi Minyak (Rice Bran Oil). Balai penelitian dan pengembangan pasca panen pertanian Bogor. 29(4).

Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman AntingAnting (acalypha indica linn.) Terhadap Larva Udang Artemia

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Salina Leach. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, UIN.

Hamburger M, Hostettmann K. 1991. Bioactivity in plants: the link between Phythochemistry and Medicine .*Phytochemistry Journal*, 30: 364-3874.

Handayani, H.dkk. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1): 262-272.

Harborne, J.B., 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, terbitan ke-2, terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung, 8-9, 13-14, 85.

Hayati, E.K, Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalarial In Vivo Ekstrak Atil Asetat Tanaman Anting-Anting *(Acalypha Indica L)*. *Jurnal Molekul*. 7(1): 20-32.

Hendryani, S., Litfi, M., Hawa, L C. 2015. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirih Merah Kering (*Piper Crotatum*) dengan Metode Pra-Perlakuan *Ultrasonic Assisted Extraction* (Kajian Perbandingan Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, 3 (2): 33-38.

Inayah, N., Ningsih, R., dan Adi, T. K. 2012. Uji Toksisitas dan Identifikasi Awal Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Dan N-Heksana Teripang Pasir *(Holothuria Scabra)* Kering Pantai Kenjeran Surabaya. *Alchemy*. 2(1).

Iriawan, N. dan Astuti, S. 2006. *Mengolah Data Statistika dengan Mudah Menggunakan Minitab 14*. Yogyakarta: CV Andi Offset.

Isnansetyo A. dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton, Zooplankton. Pakan Alam untuk Pembenihan Organisme Laut.* Yogyakarta: Kanisius.

Kahlon, T.S., F.I. Chow, M.M. Chui, C.A Hudson dan R.N Sayre. 1996. Choresterol-Lowering by Rice Bran and Rice Iol Unsaponifable Matter in Hamster. *Cereal Chemistry*, 73(1): 69-74 1996.

Kannan A, Hettiarachchy N, Narayan S. 2009. Colon and breast anti-cancer effects of peptide hydrolysates derived from rice bran. *The Open Bioactive Coumpounds Journal*, 2: 17-20.

Kanwar, A.S. 2007. Brine Shrimp (Artemia salina) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Chinese Clinical Medicine*, 2 (4): 35-42.

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kuldikole, J. 2002. Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzym Activity and Quality Indicat=ors of Fruit and Vegetables Juices. Dissetation der Techischen Universitas Berlin. Berlin.

Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.

Kumala, C. D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung *(Dioscoreahispida),* Rerak *(Sapindusrarak)* dan Biji Sirsak *(Annonamuricata L.)* sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.

Kuriyan R, N. Gopinath, M. Vas, A.V. Kurpad. 2005. Use of rice bran oil in patients with Hyperlipidaemia. *The National Medica Journal of India*, 18 (6): 292-296.

Lajnah Pentashihan Mushhaf al-Quran. 2009. *Tafsir al-Quran Tematik.* Jakarta : Kamil Pusta.

Lenny,S. 2006. Senyawa Flavonoid, Fenil Propanoida dan Alkaloida. Karya Ilmiyah. *Tidak diterbitkan* Medan : FMIPA Universitas Sumatrera Utara.

Lestiani, Lanny. 2008. *Vitamin Larut Air*. Jakarta: Universitas Indonesia.

Liu, W. J. H. 2010. Traditional Herbal Medicine Research Methods: *Identification, Analysis, Bioassay, and Pharmaceutical and Clinical Studies*. John Wiley and Sons, New Jersey.

Mariana, L., Andayani, Y., dan Gunawan, E.R. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih *(Artocarpus camansi). Chemistry Program*, 6(2): 50-55.

Meyer, dkk. 1982. Brine Shrimp:A Convenient General Bioassay for Active Plant constituents. *Planta Medica* 45 (5): 31-34.

Mc lin JL, Chang C-J, Smith DL (1991) Bench Top Bioassays For The Discovery of Bioactive Natural Products an Update. In: Atta-ur-Rahman, ed. Studies in Natural Products Chemistry. Amsterdam: Elsevier; (9): 388–409.

Moko, E.M., Purnomo, H., Kusnandi, J., dan Ijong, F. G. 2014. Phytochemical Content and Antioxidant Properties Of Colored and Non Colored Varieties Of Rice Brand From Minahasa, North Sulawesi, Indonesia. *International Food Research Journal*, 21(3): 1053-1059.

Mudjiman, A. 1988. *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*. Jakarta: Penerbit Bhratara Karya Aksara.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Orthoefor, F. T. 2001. Rice Bran Oil. Di Dalam. Champagne, E. T (Ed). Rice Chemistry and Technology 3th Edition. American Association of Cereal Chemistry. Inc, St.Paul.

Ovani, I. 2013. Pengembangan Minuman Emulsi Minyak Bekatul Berflavor Kaya Antioksidan Untuk Pencegahan Penyakit Tidak menular. *Skripsi*. tidak diterbitkan. Bogor : IPB.

Panjaitan. 2011. Uji toksisitas akutekstrak kulit batang pulasari (alyxiae cortex) dengan metode brine shrimp lethality tes. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Darma.

Praptiwi, dkk. 2007. Uji Aktivitas Antimalaria Secara In-Vivo Ekstrak Ki Pahit (Picrasma javanica) Pada Mencit Yang Diinfeksi Plasmodium berghei. *Biodiversitas*, 8(2): 111-113.

Purwaningsih, Y. (2003). Isolasi dan Identifikasi Senyawa-senyawa Flavonoid dari Biji Kacang Tunggak *(Vigna unguiculata (L). Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Rana, dkk. 2004. In vivo Antioxidant Potential of Rice Bran Oil(RBO) in Albino Rast. *Indian Journal Physol Pharmacol*, 48 (4): 428-236.

Robinson, T. 1995. *Kandungan organic Tumbuhan TinggiI*. Bandung*:* ITB.

Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Penerbit Lieberty.

Shihab, M.Q. 2002.Tafsir Al Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an. Jakarta: Lentera Hati.

Sompong dkk. 2011. Physichemistry and Antioxidative Propertise of Red an Black Rice Varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chemistry* 124: 132-140.

Sudjadi. 1988. Metode Pemisahan. Yogyakarta: Kanisius.

Sukmawati, D. A. N., Hayati, E. K., dan Muti'ah, R. 2014. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Tanaman Kesembukan (Paederia Foetida Linn.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Alchemy*, 3(2): 189-193.

Suseno, J.E dan Firdausi, K.S. 2008. Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared) untuk Penetuan Kualitas Susu Sapi. *Berkala Fisika*. 11(1): 23-28.

Tazakori Z, Dehghan MH, Iranparvar M, Zare M, Foladi N, Mohmmadi R. 2007. Effect of rice brand powder on blood glucose levels and serum lipid parameters in diabetes patient II. *Journal Biology Science*, 2: 252-255.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Teyler V.E. et.al. 1988. *Pharmacognosy 9th Edition*. 187 – 188. Phiadelphia: Lea 11& Febiger.

Thayyarah, Nadiah. 2014 Buku Pintar Sains dalam al-Quran. Terj. Zainal Arifin dkk. Jakarta.

Tjay, T. H., dan Rahardja, K. 2002. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya, Edisi Kelima*. Jakarta: Efek Media Komputindo.

Tohir, A.M. 2010. Teknik Ekstraksi Dan Aplikasi Beberapa Pestisida Nabati Untuk Menurunkan Palatabilitas Ulat Grayak (*Spodoptera Litura Fabr*.) di Laboratorium. *Buletin Teknik Petanian*, 15(1): 37-40.

Ulfa, S.T. 2016. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dan Bekatul dengan Menggunakan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.

Wasitaatmadja, SM. 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik*. Jakarta: UI-Pres.

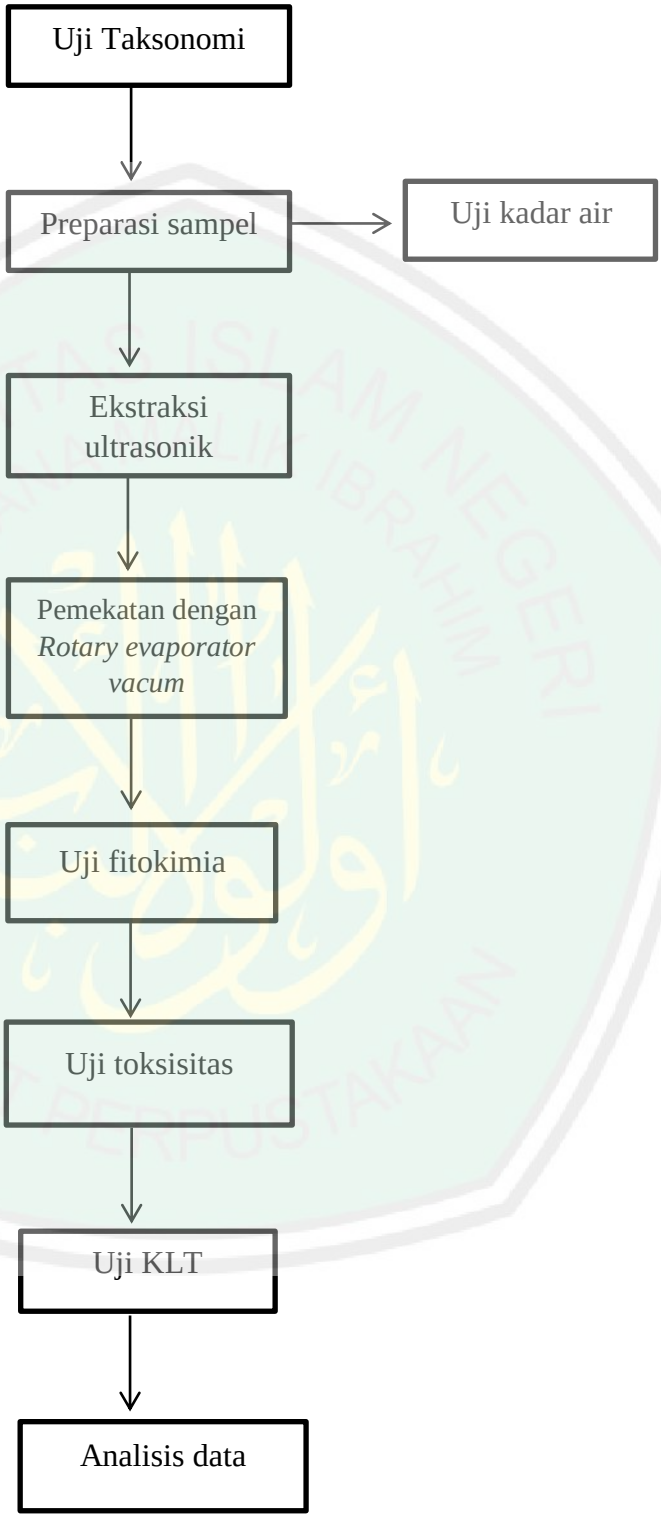
Yuswi, N C R. 2017. Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak (Eleutherine Palmifolia) dengan Metode Ultrasonic Bath (Kajian Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 5(1): 71-79.

Zou TB, En-Qin Xia, Tai-Ping He, Ming-Yuan Huang, Qing Jia, and Hua-Wen Li. 2014. Ultrasound-Assisted Extraction of Mangeferin from Mango Leaves Using Response Surface Methodology. Molecules 19, 1411-1421.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 2. Skema Kerja

1. Preparasi Sampel

Bekatul

- Diayak 40 mesh
- Dibungkus dengan aluminium foil
- Diinkubasi selama 3 menit pada suhu 120^{o}C

Hasil

2. Penentuan Kadar Air

Bekatul

- Disiapkan cawan poselen
- Dipanaskan dalam oven pada suhu 105^{o}C selama 15 menit
- Disimpan cawan poselen dalam desikator selama 10 menit
- Ditimbang berat cawan kosong sampai konstan
- Dimasukkan 5 gram bekatul dalam cawan porselen
- Dimasukkan dalam oven suhu 105^{o}C selama 15 menit
- Disimpan dalam desikator selama 10 menit
- Ditimbang sampel hingga berat konstan
- Dihitung kadar air dengan persamaan :

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

$$Faktor\ Koreksi = \frac{100}{(100 - \%\ kadar\ air)}$$

% kadar terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Ekstraksi Ultrasonik Bath

Sampel

- Dimasukkan 5 gram sampel dalam 3 erlenmeyer (E1, E2, E3)
- Ditambahkan pelarut etanol dalam E1, atil asetat pada E2, dan heksan pada E3 (1:10)
- Dimasukkan dalam ultrasonic bath dengan frekuensi 42 Hz

Hasil

- Disaring dengan kertas saring Whatman

filtrat | residu

- Dievaporasi masing masing ekstrak pada suhu 60ºC
- Diulangi perlakuan sebanyak 3 kali
- Dihitung rendemen dari masing-masing ekstrak dengan persamaan :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{Berat\ Ekstrak}{Berat\ Sampel} \text{ x } 100\%$$

Hasil

4. Uji Toksisita dengan Larva udang (*Artemia Salina Leach)*

Telur larva udang (*Artemia Salina Leach*)

- Dimasukkan 250 mL air laut kedalam botol penetasan
- Dimasukkan 2,5 mg telur *Artemia salina* Leach
- Diaerasi selama ±48 jam

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ekstrak

- Ditimbang 100 mg ekstrak
- Dilarutkan dalam 10 mL pelarutnya masing-masing (n-heksana, etil asetat, dan etanol)
- Dipipet sebanyak 1000 µL, 500 µL, 200 µL, 100 µL, 50 µL, 25 µL
- Dimasukkan dalam labu vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering
- Dimasukkan 200 µL dimetil disulfoksida, 2 tetes ragi roti, 2 mL air laut
- Dikocok sampai ekstrak larut
- Dipindahkan dalam labu ukur 10 mL
- Dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach
- Ditambahkan air laut sampai 10 mL
- Diamati larva udang yang mati dalam LC_{50} setelah 24 jam
- Diulangi perlakuan sebanyak 3 kali

Hasil

Pembuatan control

pelarut

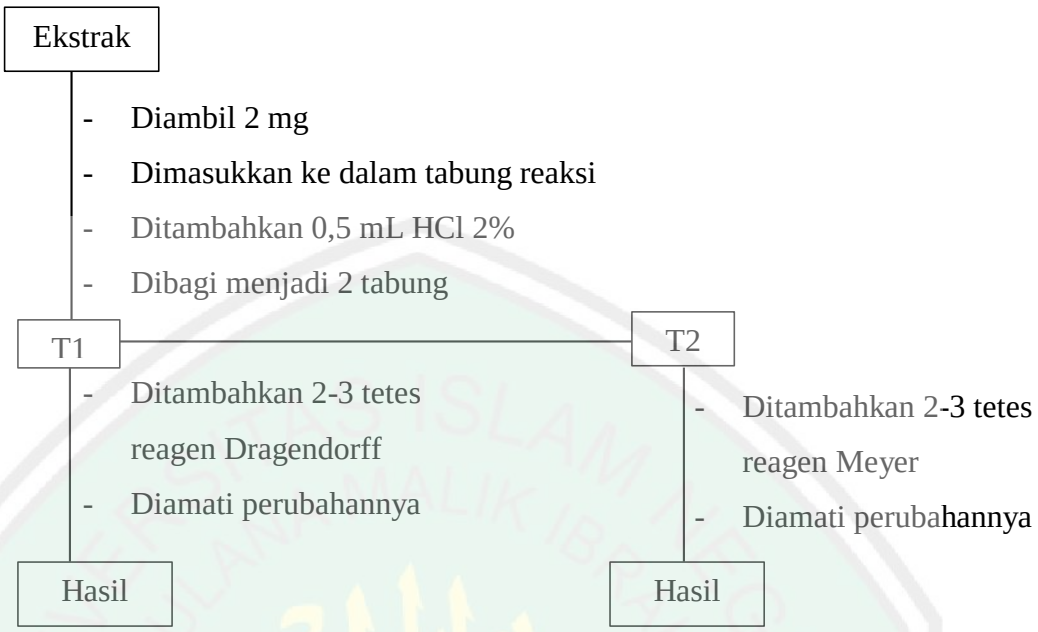
- Diambil 1000 µL masing-masing pelarut
- Dimasukkan kedalam labu vial dan diuapkan hingga kering
- Dimasukkan 100 µL dimetil sulfoksida, 2 tetes ragi roti, 2 mL air laut
- Dikocok sampai larut
- Dipindahkan dalam labu ukur 10 mL
- Dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach
- Ditambahkan air laut sampai volume 10 mL
- Diamati larva udang yang mati dalam LC_{50} setelah 24 jam
- Diulang perlakuan sebanyak 3 kali

Hasil

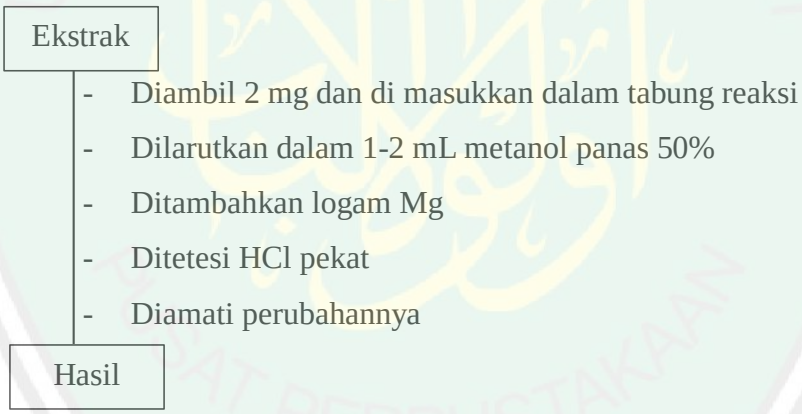
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

5. Uji Kandungan Senyawa Aktif dengan Reagen

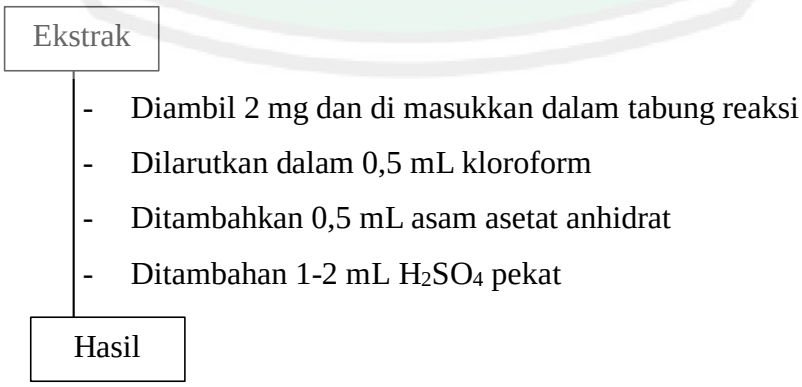
a. Uji Alkaloid



b. Uji Flavonoid



c. Uji Triterpenoid dan Steroid



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

d. Uji Saponin

Ekstrak

- Diambil 2 mg dan di masukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan air dengan perbandingan 1:1
- Dikocok selama 1 menit
- Ditambahkan HCl 1 N jika menimbulkan busa
- Diamati lama waktu menghilangnya busa

Hasil

e. Uji Tanin

Ekstrak

- Diambil 2 mg dan di masukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan 2-3 tetes $FeCl_3$ 1%
- Diamati perubahan yang terjadi

Hasil

6. Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik (KLTA)

Plat KLT silika gel F254 (1x10)

- Diaktifkan dengan dipanaskan dalam oven pada suhu 100^oC selama 30 menit
- Ditandai tepi bawah plat pada jarak ±1 cm menggunakan jarum
- Ditotolkan sebanyak 10 penotolan menggunakan pipa kapiler
- Dikeringkan hasil totolan dalam suhu ruang
- Dimasukkan kedalam bejana pengembang yang terdiri dari beberapa eluen yang berbeda yang telah dijenuhkan
- Diletakkan dalam lemari asam
- Ditutup eluen untuk mengenbangkan larutan
- Dielusi hasil totolan dengan larutan pengembang
- Dihentikan elusi setelah dasa gerak sampai tanda batas plat KLT sikila gel F_{254}
- Diperiksa dibawah sinar UV pada panjang gelombnag 245 dan 366

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

7. Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT preparatif (KLTP)

Plat KLT ukuran 10x20 cm

- Ditotolkan sampel 10x totolan
- Dielusi dengan fase gerak yang sesuai
- Dihentikan elusi ketika sampai garis batas
- Diamati noda dilampu UV 254 nm dan 366 nm
- Diukur Rf nya
- Dikerok noda yang mempunya Rf hamper sama dengan noda senyawa

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan Sampel Uji dan Reagen

1. Pembuatan Larutan Sampel untuk Uji Toksisitas

Ppm = mg/L

mg = ppm.L (jika dibuat larutan stok sebanyak 10 mL =10^{-2} L

=10000 ppm. 10^{-2} L

=100 mg

Jadi, larutan stok 10000 ppm dibuat dengan melarutkan 100 mg sampel ke dalam 10 ml pelarutnya.

a. Pembuatan larutan ekstrak 25 ppm

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 10000 ppm = 10 mL.25 ppm

V_1 = 250 mL.ppm/10000 ppm

= 0,025 mL = 25 μL

Jadi, larutan ekstrak 25 ppm dibuat dengan melarutkan 25 μL ekstrak kedalam 10 mL pelarutnya.

b. Pembuatan larutan ekstrak 50 ppm

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 10000 ppm = 10 mL.50 ppm

V_1 = 500 mL.ppm/10000 ppm

= 0,05 mL = 50 μL

Jadi, larutan ekstrak 50 ppm dibuat dengan melarutkan 50 μL ekstrak kedalam 10 mL pelarutnya.

c. Pembuatan larutan ekstrak 100 ppm

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 10000 ppm = 10 mL.100 ppm

V_1 = 1000 mL.ppm/10000 ppm

= 0,1 mL = 100 μL

Jadi, larutan ekstrak 100 ppm dibuat dengan melarutkan 100 μL ekstrak kedalam 10 mL pelarutnya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

d. Pembuatan larutan ekstrak 200 ppm

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 10000 ppm = 10 mL.200 ppm

V_1 = 2000 mL.ppm/10000 ppm

= 0,2 mL = 200 μL

Jadi, larutan ekstrak 200 ppm dibuat dengan melarutkan 200 μL ekstrak kedalam 100 mL pelarutnya.

e. Pembuatan larutan ekstrak 500 ppm

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 10000 ppm = 10 mL.500 ppm

V_1 = 5000 mL.ppm/10000 ppm

= 0,5 mL = 500 μL

Jadi, larutan ekstrak 500 ppm dibuat dengan melarutkan 500 μL ekstrak kedalam 10 mL pelarutnya.

f. Pembuatan larutan ekstrak 1000 ppm

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1. 10000 ppm = 10 mL.1000 ppm

V_1 = 10000 mL.ppm/10000 ppm

= 1 mL = 1000 μL

Jadi, larutan ekstrak 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 1000 μL ekstrak kedalam 10 mL pelarutnya.

2. Pembuatan Reagen untuk Uji Fitokimia

a. Pembuatan HCl 2%

$V_1.M_1 = V_2.M_2$

V_1 . 37% = 10 mL . 2%

$V_1 = \frac{10\ mL\ .\ 2\%}{37\%}$

= 0,5 mL

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Jadi, HCl 2% dapat dibuat dengan memasukkan 0,5 mL HCl 37% ke dalamlabu ukur 10 mL kemudian ditambahkan aquades kedalam labu ukur smapai tanda batas. Larutan kemudian dihomogenkan.

b. Pembuatan Reagen Dragendorff

Larutan I : 0,6 gr $Bi(NH_3)_3.5H_2O$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades

Larutan II : 6 gr KI dalam 10 mL aquades

Larutan I reagen Dragendorff dapat dibuat dengan melarutkan 0,6 gr $Bi(NH_3)_3.5H_2O$ ke dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades. Sedangkan larutan II dapat dibuat dengan melarutkan 6 gr KI dalam 10 mL aquades (Wagner,2001).

c. Pembuatan Reagen Meyer

Larutan I : 1,358 gr $HgCl_2$ dalam 60 mL aquades

Larutan II : 5 gr KI dalam 10 mL aquades

Larutan I reagen Dragendorff dapat dibuat dengan melarutkan 1,358 gr $HgCl_2$ ke dalam 60 mL aquades. Sedangkan larutan II dapat dibuat dengan melarutkan 5 gr KI dalam 10 mL aquades. Kemudian larutan I dituangkan ke dalam larutan II dan diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan,2006).

d. Pembuatan Reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat pekat : 5 mL

Anhidrida asetat : 5 mL

metanol absolut : 50 mL

Larutan reagen Lieberman-Burchard dapat dibuat dengan mencampurkan 5 mL asam sulfat pekat dan 5 mL anhidrida asetat kedalam 50 mL metanol absolut. Larutan kemudian didinginkan dalam lemari pendingin. Penggunaan reagen ini harus langsung digunakan setelah pembuatan (Wagner,2001).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

e. Pembuatan HCl 1 N

BJ HCl pekat = 1,19 gr/mL = 1190 gr/L

Konsentrasi = 37%

BM HCl =36,42 gr/mol

n = 1 (jumlah mol ion H^+)

Normalitas HCl = n x molaritas HCl

$= 1 \text{ x} \frac{37\% \; x \; 1190 \; gr/L}{36{,}42 \; gr/mol}$

=12,09 N

$N_1.V_1 = N_2.V_2$

12,09 N .V_1 = 1 N . 100 mL

V_1 =8,27 mL

Larutan HCl 1 N dibuat dengan cara mencampurkan 8,27 mL HCl pekat 37% dengan aquades 15 ml dalam labu ukur 100 mL ditanda bataskan kemudian dihomogenkan.

f. Pembuatan Metanol 50%

$M_1.V_1 = M_2.V_2$

99,8% . V_1 = 50% . 10 mL

V_1 = 5 mL

Metanol 50% dibuat dengan cara memasukkan 5 mL metanol 99,8% ke dalam labu ukur 10 mL yang berisi 5 mL aquades kemudian ditanda bataskan lalu dihomogenkan.

g. Pembuatan $FeCl_3$ 1%

% konsentrasi $= \frac{gterlatut}{g \; terlarut + g \; pelarut} \text{ x } 100\%$

g pelarut + g pelarut $= \frac{gterlatut}{\%\; konsentrasi} \text{ x } 100\%$

1 g + g pelarut $= \frac{1 \; g}{1\%} \text{ x } 100\%$

g pelarut = 100 g- 1 g = 99 g

volume pelarut $= \frac{gterlatut}{BJ \; pelarut} = \frac{99 \; g}{1 \; g/mL} =$ 00 mL

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Cara pembuatan $FeCL_3$ 1% adalah ditimbang serbuk $FeCl_3.6H_2O$ sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 ml lalu ditambahkan aquades 99 mL untuk melarutkan serbuk tersebut. Diaduk dengan batang pengaduk.

3. Pembuatan Eluen

a. Alkaloid

1. Kloroform : metanol (9:1)

   Kloroform = 9/10 x 20 = 18 mL

   Metanol = 1/10 x 20 = 2 mL

2. Kloroform : metanol (9,5:0,5)

   Kloroform = 9,5/10 x 10 = 9,5 mL

   Metanol = 0,5/10 x 10 = 0,5 mL

3. Kloroform : metanol (95:5)

   Kloroform = 95/100 x 100 = 95 mL

   Metanol = 5/100 x 100 = 5 mL

4. Etil asetat : metanol : air (100:16,5:13,5)

   Etil asetat = 100/130 x 130 = 100 mL

   Metanol = 16,5/130 x 130 = 16,5 mL

   Air = 5/130 x 130 = 5 mL

b. Flavonoid

1. Kloroform : etil asetat (60:40)

   Kloroform = 60/100 x 100 = 60 mL

   Metanol = 40/100 x 100 = 40 mL

2. Butanol : asam asetat : air (3:1:1)

   Butanol =3/5 x 5 = 3 mL

   Asam asetat = 1/5 x 5 = 1 mL

   Air = 1/5 x 5 = 1 mL

3. n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

   n-butanol = 4/10 x 10 = 4 mL

   Asam asetat = 1/10 x 10 = 1 mL

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Air = 5/10 x 10 = 5 mL

4. n-heksana : etil asetat (8:2)

   n-heksana = 8/10 x 10 = 8 mL

   Etil asetat = 2/10 x 10 = 2 mL

5. Kloroform : metanol : air (9,7:0,2:0,1)

   Kloroform = 9,7/10 x 10 = 9,7 mL

   Metanol = 0,2/10 x 10 =0,2 mL

   Air = 0,1/10 x 10 = 0,1 mL

c. Triterpenoid

1. Kloroform : metanol : etil asetat (20:60:10)

   Kloroform = 20/70 x 70 = 20 mL

   Metanol = 60/70 x 70 =60 mL

   Etil asetat = 10/70 x 70 = 10 mL

2. Etanol : air (7:1)

   Etanol = 7/8 x 8 = 7 mL

   Air = 1/ 8 x 8 = 1 mL

3. n-heksana : etil asetat (2:8)

   n-heksana = 2/10 x 10 =2 mL

   Etil asetat = 8./10 x10 = 8 mL

4. n-heksana : etil asetat (8:2)

   n-heksana = 8/10 x 10 = 8 mL

   Etil asetat = 2/10 x 10 = 2 mL

5. kloroform :metanol (4,7:0,3)

   Kloroform = 4,7/5 x 5 = 4,7 mL

   Metanol = 0,3/5 x 5 =0,3 mL

d. Steroid

1. n-heksana : etil asetat (8:2)

   n-heksana = 8/10 x 10 = 8 mL

   Etil asetat = 2/10 x 10 = 2 mL

2. n-heksana : etil asetat (7:3)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

n-heksan = 7/10 x 10 = 7 mL

Etil asetat =3/10 x10 = 3 mL

3. Sikloheksana : etil asetat (1:1)

   Sikloheksana = 1/1 x 1 =1 mL

   Etil asetat = 1/1 x 1 = 1 mL

4. Sikloheksana : etil asetat (6:4)

   Sikloheksana = 6/10 x 10 = 6 mL

   Etil asetat = 4/10 x 10 = 4 mL

5. Kloroform : metanol (3:7)

   Kloroform = 3/10 x 10 = 3 mL

   Etil asetat = 7/10 x10 = 7 mL

e. Saponin

1. Kloroform : metanol : air (20:60:10)

   Kloroform = 20/90 x 100 = 22,2 mL

   Metanol = 60/90 x 100 = 66,67 mL

   Air = 10/90 x 100 = 11,1 mL

2. Kloroform : metanol : air (3:1:0,1)

   Kloroform = 3/4,1 x 5 = 3,65 mL

   Metanol = 1/4,1 x 5 = 1,2 mL

   Air = 0,1/4,1 x 5 = 0,1 mL

3. Kloroform : metanol : air (20:60:10)

   Kloroform = 20/90 x 100 = 22,2 mL

   Metanol = 60/90 x 100 = 66,67 mL

   Air = 10/90 x 100 = 11,1 mL

4. Kloroform : metanol : air (13:7:2)

   Kloroform = 13/22 x 22 = 13 mL

   Metanol = 7/22 x 22 = 7 mL

   Air = 2/22 x 22 = 2 mL

5. n-heksana : aseton (4:1)

   n-heksana = 4/5 x 5 = 4 mL

   Aseton = 1/5 x 5 = 1 mL

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

f. Tanin

1. Kloroform : metanol : air (7:3:0,4)

   Kloroform = 7/10,4 x 10,4 = 7 mL

   Metanol = 3/10,4 x 10,4 = 3 mL

   Air = 0,4/10.4 x 10,4 = 0,4 mL

2. n-heksana : etil asetat (6:4)

   n-heksana = 6/10 x 10 = 6 mL

   Etil asetat = 4/10 x 10 =4 mL

3. Asam asetat glasial : air : HCl pekat (30:10:3)

   Asam asetat glasial = 30/43 x 43 = 30 mL

   Air = 10/43 x 43 = 10 mL

   HCl pelat = 3/43 x 43 = 3 mL

4. n-butanol : asam asetat : air (4:1:5)

   n-butanol = 4/10 x 10 = 4 mL

   Asam asetat = 1 /10 x 10 = 1 mL

   Air = 5/10 x 10 = 5 mL

5. n-butanol : asam asetat : air (2:0,5:1,1)

   n-butanol = 2/3,6 x 3,6 = 2 mL

   Asam asetat = 0,5/3,6 x 3,6 = 0,5 mL

   Air = 1,1/3,6 x 3,6 = 1,1 m

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 4. Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

1. Perhitungan Rendemen

Table L4.1.1 Hasil rendemen ekstrak etanol

Ekstrak Etanol	Ulangan	Berat sampel (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)	Hasil (%)	Rata-Rata(%)
20 menit	1	5	0,5771	11,542	18,159
	2	5	1,2283	24,57	
	3	5	0,9183	18,366	
25 menit	1	5	0,9603	19,206	19,132
	2	5	0,9287	18,574	
	3	5	0,9811	19,622	
30 menit	1	5	1,1063	22,128	18,280
	2	5	0,5547	11,094	
	3	5	1,0809	21,618	

Tabel L4.1.2 Hasil rendemen ekstrak etil asetat

Ekstrak Etil asetat	Ulangan	Berat sampel (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)	Hasil (%)	Rata-Rata
20 menit	1	5	0,3345	6,691	8,302
	2	5	0,3696	7,392	
	3	5	0,5412	10,824	
25 menit	1	5	0,2906	5,812	7,282
	2	5	0,3132	6,264	
	3	5	0,4886	9,772	
30 menit	1	5	0,3482	6,964	9,18
	2	5	0,3750	7,50	
	3	5	0,6538	13,075	

Table L4.1.3 Hasil Rendemen Ekstrak n-heksana

Ekstrak n-heksana	Ulangan	Berat sampel (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)	Hasil (%)	Rata-Rata
20 menit	1	5	0,3318	6,636	7,815
	2	5	0,3751	7,502	
	3	5	0,4654	9,308	
25 menit	1	5	0,3384	6,768	7,125
	2	5	0,3250	6,50	
	3	5	0,4053	8,106	
30 menit	1	5	0,2927	5,854	7,279
	2	5	0,3053	6,106	
	3	5	0,4939	9,878	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2. Perhitungan Kadar Air

Table L4.2.1 Perhitungan Kadar Air

Ulangan	Cawan Kosong (gr)	Sampel + Cawan (gr)	Setelah Oven (gr)	Hasil (gr)	Rata-Rata (%)
1	41,3234	46,3235	45,9267	7,9358	8,0695
2	52,1298	57,1294	56,7113	8,3626	
3	44,0846	49,0846	48,6891	7,91	

3. Data dan Perhitungan Uji Toksisitas

Tabel L.4.3.1 Data uji toksisitas ekstrak etanol

Ekstrak etanol	Konsentrasi	Ulangan			Modus
		1	2	3	
20 menit	0	0	0	0	0
	25	1	1	0	1
	50	1	0	1	1
	100	1	0	1	1
	200	1	0	1	1
	500	3	3	2	3
	1000	9	3	9	9
25 menit	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0
	50	1	0	0	0
	100	1	0	0	0
	200	1	0	0	0
	500	3	0	0	0
	1000	3	10	10	10
30 menit	0	0	0	0	0
	25	2	1	0	0
	50	6	0	0	0
	100	1	1	2	1
	200	1	1	2	1
	500	1	0	1	1
	1000	3	3	3	3

Tabel L.4.3.2 Data uji toksisitas ekstrak etil asetat

Ekstrak etil asetat	Konsentrasi	Ulangan			Modus
		1	2	3	
20 menit	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0
	50	0	0	0	0
	100	0	0	1	0
	200	3	2	2	2
	500	0	1	1	1
	1000	2	5	5	5

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

25 menit	0	0	0	0	0
	25	0	0	0	0
	50	0	0	1	0
	100	2	3	2	2
	200	2	1	1	1
	500	1	1	2	1
	1000	2	6	6	6
30 menit	0	0	0	0	0
	25	3	3	0	3
	50	2	0	2	2
	100	1	1	0	1
	200	1	1	1	1
	500	2	2	0	2
	1000	9	1	9	9

Tabel L.4.3.2 Data uji toksisitas ekstrak n-heksana

Ekstrak n-heksana	Konsentrasi	Ulangan			Modus
		1	2	3	
20 menit	0	0	0	0	0
	25	2	1	1	1
	50	3	1	1	1
	100	1	2	2	2
	200	0	1	2	1
	500	2	2	2	2
	1000	2	10	10	10
25 menit	0	0	0	0	0
	25	0	2	1	1
	50	0	1	1	1
	100	1	1	3	1
	200	1	1	0	1
	500	1	7	7	7
	1000	1	7	7	7
30 menit	0	0	0	0	0
	25	2	2	0	2
	50	2	2	0	2
	100	1	2	1	1
	200	1	1	2	1
	500	2	2	4	2
	1000	2	9	9	9

4. Hasil KLT dan Perhitungan nilai Rf

4.1 KLTA

Menit 20

Noda 1 = $\frac{2{,}2\ cm}{8\ cm} = 0{,}275\ cm$

Noda 2 = $\frac{2{,}7\ cm}{8\ cm} = 0{,}3375\ cm$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Noda 3 = $\frac{3{,}1\ cm}{8\ cm} = 0{,}3875\ cm$

Noda 4 = $\frac{4{,}4\ cm}{8\ cm} = 0{,}55\ cm$

Noda 5 = $\frac{4{,}9\ cm}{8\ cm} = 0{,}6125\ cm$

Menit 25 Noda 1 = $\frac{2{,}2\ cm}{8\ cm} = 0{,}275\ cm$

Noda 2 = $\frac{2{,}8\ cm}{8\ cm} = 0{,}35\ cm$

Noda 3 = $\frac{3{,}1\ cm}{8\ cm} = 0{,}3875\ cm$

Noda 4 = $\frac{4{,}4\ cm}{8\ cm} = 0{,}55\ cm$

Noda 5 = $\frac{4{,}9\ cm}{8\ cm} = 0{,}6125\ cm$

Menit 30 Noda 1 = $\frac{2{,}3\ cm}{8\ cm} = 0{,}2875\ cm$

Noda 2 = $\frac{3\ cm}{8\ cm} = 0{,}375\ cm$

Noda 3 = $\frac{3{,}3\ cm}{8\ cm} = 0{,}4125\ cm$

Noda 4 = $\frac{4{,}7\ cm}{8\ cm} = 0{,}5875\ cm$

Noda 5 = $\frac{5{,}2\ cm}{8\ cm} = 0{,}65\ cm$

4.2 KLTP

Menit 20 Noda 1 = $\frac{9{,}8\ cm}{18\ cm} = 0{,}5444\ cm$

Noda 2 = $\frac{11{,}2\ cm}{18\ cm} = 0{,}6222\ cm$

Noda 3 = $\frac{12{,}2\ cm}{18\ cm} = 0{,}6778\ cm$

Noda 4 = $\frac{13{,}2\ cm}{18\ cm} = 0{,}7333\ cm$

Noda 5 = $\frac{15\ cm}{18\ cm} = 0{,}8333\ cm$

Menit 25 Noda 1 = $\frac{5{,}7\ cm}{18\ cm} = 0{,}3167\ cm$

Noda 2 = $\frac{9{,}5\ cm}{18\ cm} = 0{,}5278\ cm$

Noda 3 = $\frac{10{,}9\ cm}{18\ cm} = 0{,}6056\ cm$

Noda 4 = $\frac{12{,}4\ cm}{18\ cm} = 0{,}6889\ cm$

Noda 5 = $\frac{13{,}2\ cm}{18\ cm} = 0{,}7333\ cm$

Noda 6 = $\frac{14{,}5\ cm}{18\ cm} = 0{,}8056\ cm$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Noda 7 = $\frac{15{,}3\ cm}{18\ cm} = 0{,}85\ cm$

Menit 30

Noda 1 = $\frac{9{,}8\ cm}{18\ cm} = 0{,}5444\ cm$

Noda 2 = $\frac{8{,}6\ cm}{18\ cm} = 0{,}4778\ cm$

Noda 3 = $\frac{11{,}6\ cm}{18\ cm} = 0{,}6444\ cm$

Noda 4 = $\frac{12{,}7\ cm}{18\ cm} = 0{,}7056\ cm$

Noda 5 = $\frac{13{,}6\ cm}{18\ cm} = 0{,}7556\ cm$

Noda 6 = $\frac{14{,}9\ cm}{18\ cm} = 0{,}8278\ cm$

Noda 7 = $\frac{15{,}7\ cm}{18\ cm} = 0{,}8722\ cm$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 5. Hasil Analisa Probit Menggunakan SPSS 20

Tabel L5.1 E1 20

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	4.329	2.003	2.161	.031	.403
	Intercept	-12.067	5.669	-2.129	.033	-17.736

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	.827	3	.843[a]

a. Since the significance level is greater than ,500, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.096
	2	.096
	3	.096
	4	.112
	5	.413
	6	.838

Table L5.2 E1 25

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	6.248	2.326	2.686	.007	1.690
	Intercept	-17.670	6.583	-2.684	.007	-24.252

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	4.308	3	.230[a]

a. Since the significance level is less than ,500, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.000
	2	.000
	3	.000
	4	.000
	5	.210
	6	.859

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel L5.3 E1 30

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	1.617	1.079	1.499	.134	-.497
	Intercept	-5.411	3.304	-1.637	.102	-8.715

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	1.067	3	.785[a]

Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.001
	2	.004
	3	.015
	4	.046
	5	.148
	6	.288

Tabel L5.4 E2 20

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	2.229	3.095	.720	.471	-3.837
	Intercept	-6.830	9.462	-.722	.470	-16.292

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	1.669	3	.644[a]

a. Since the significance level is greater than ,500, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.000
	2	.001
	3	.009
	4	.044
	5	.207
	6	.442

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel L5.5 E2 25

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	1.405	1.809	.777	.437	-2.141
	Intercept	-4.313	5.725	-.753	.451	-10.037

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	6.075	3	.108[a]

a. Since the significance level is less than ,500, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.009
	2	.027
	3	.067
	4	.140
	5	.302
	6	.462

Tabel L5.6 E2 30

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	6.313	2.639	2.392	.017	1.141
	Intercept	-17.966	7.572	-2.373	.018	-25.538

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	2.729	3	.435[a]

a. Since the significance level is less than ,500, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.166
	2	.166
	3	.166
	4	.166
	5	.313
	6	.862

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel L5.7 E3 20

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	4.350	1.986	2.191	.028	.458
	Intercept	-12.063	5.561	-2.169	.030	-17.624

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	4.963	3	.175[a]

a. Since the significance level is less than ,500, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
2b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.121
	2	.121
	3	.122
	4	.139
	5	.450
	6	.858

Tabel L5.8 E3 25

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	3.268	1.149	2.846	.004	1.017
	Intercept	-8.995	3.176	-2.832	.005	-12.171

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	4.573	3	.206[a]

a. Since the significance level is less than ,500, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.080
	2	.080
	3	.086
	4	.144
	5	.476
	6	.808

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel L5.9 E3 30

Parameter Estimates

	Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval
						Lower Bound
PROBIT[a]	konsentrasi	6.327	2.602	2.431	.015	1.227
	Intercept	-17.983	7.461	-2.410	.016	-25.444

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df[b]	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	1.414	3	.702[a]

a. Since the significance level is greater than ,500, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.
b. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

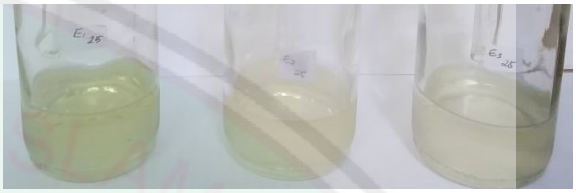
Cell Counts and Residuals

	Number	Probability
PROBIT	1	.144
	2	.144
	3	.144
	4	.144
	5	.300
	6	.864

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

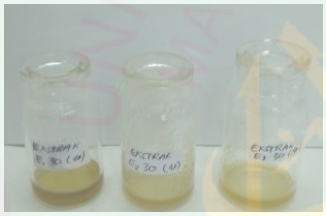
Lampiran 6. Dokumentasi

(a)

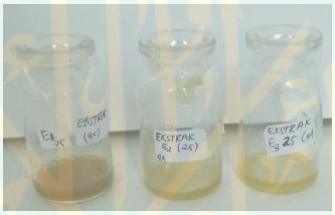


(b)

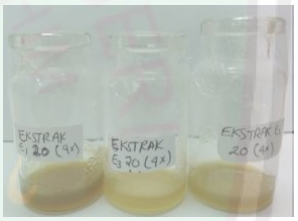
Gambar L6.1 (a) proses ekstraksi ultrasonik (b) Filtrat ekstrak



(a)



(b)



(c)

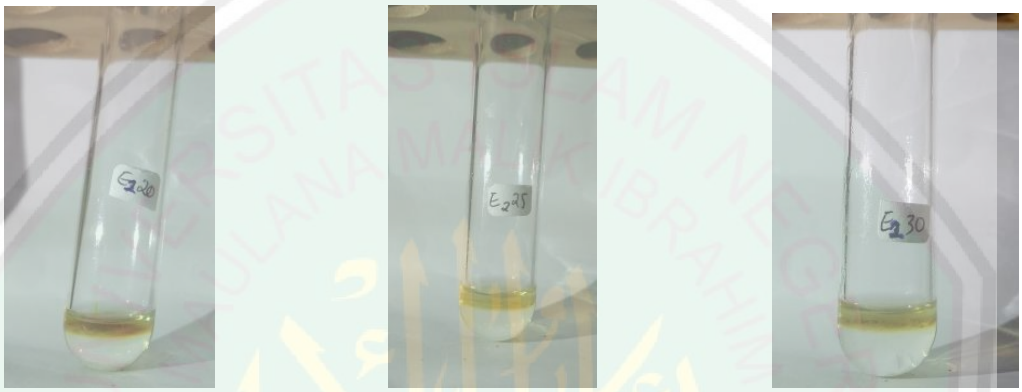
Gambar L6.2 Hasil ekstrak pekat (a) etanol 20, 25 dan 30 menit (b) etil asetat 20, 25 dan 30 menit (c) n-heksana 20, 25 dan 30 menit.

Gambar L6.3 Pertumbuhan larva udang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(a) (b) (c)

Gambar L6.4 Uji steroid ekstrak etanol (a) 20 (b) 25 (c) 30 menit



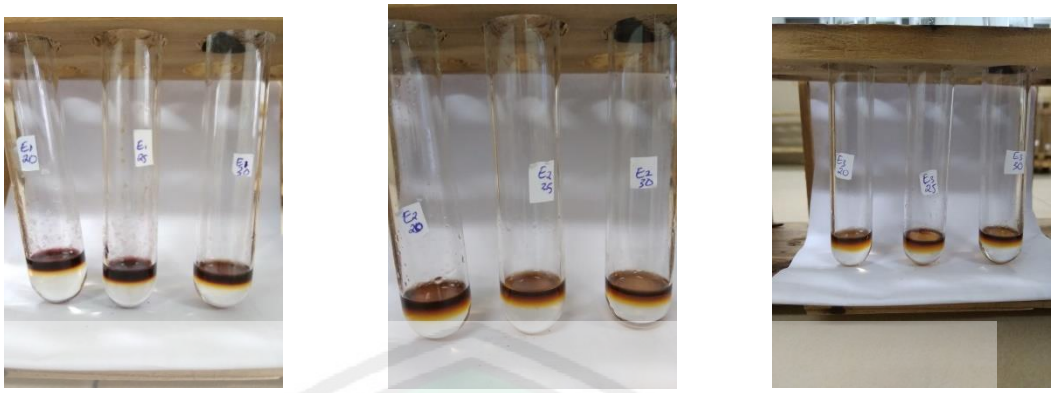
(a) (b) (c)

Gambar L6.5 Uji steroid ekstrak etil asetat (a) 20 (b) 25 (c) 30 menit

(a) (b) (c)

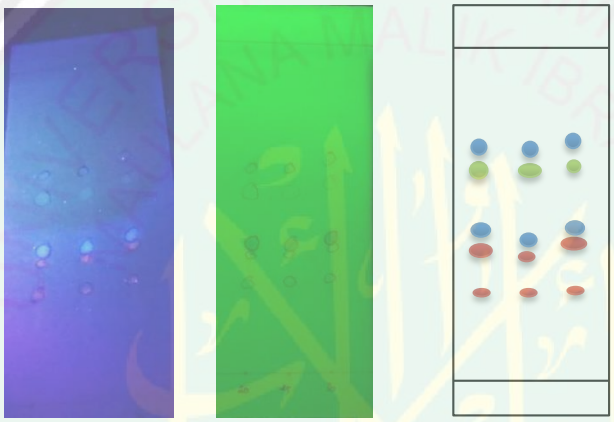
Gambar L6.6 Uji steroid ekstrak n-heksana (a) 20 (b) 25 (c) 30 menit

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



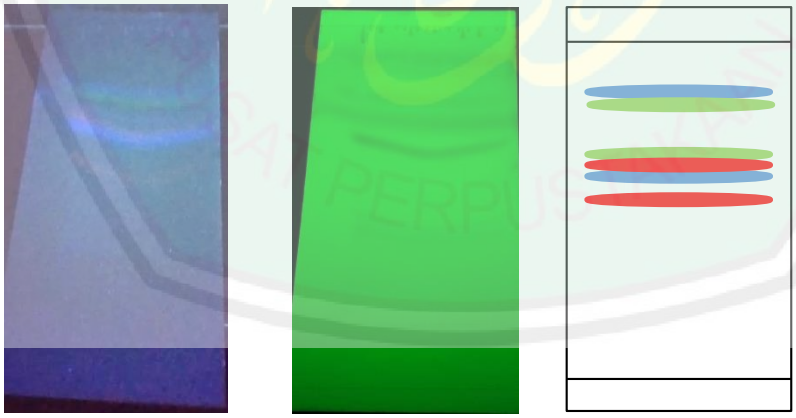
(a) (b) (c)

Gambar L6.7 Uji triterpenoid ekstrak (a) etanol (b) etil asetat (c) n-heksana



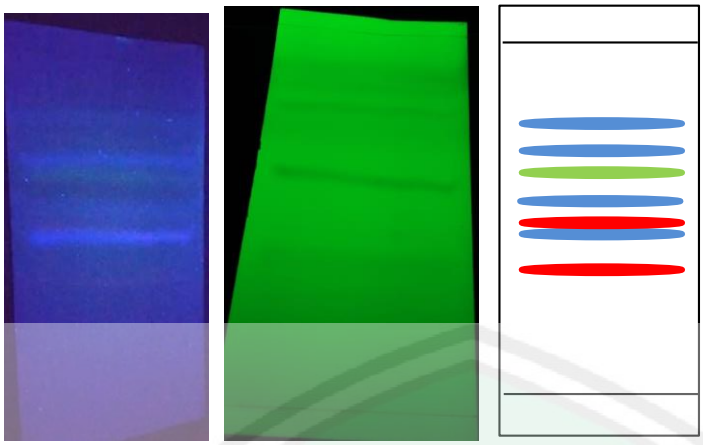
(a) (b) (c)

Gambar L6.8 Hasil KLTA diidentifikasi dibawah sinar UV (a) 366 nm (b) 254 nm

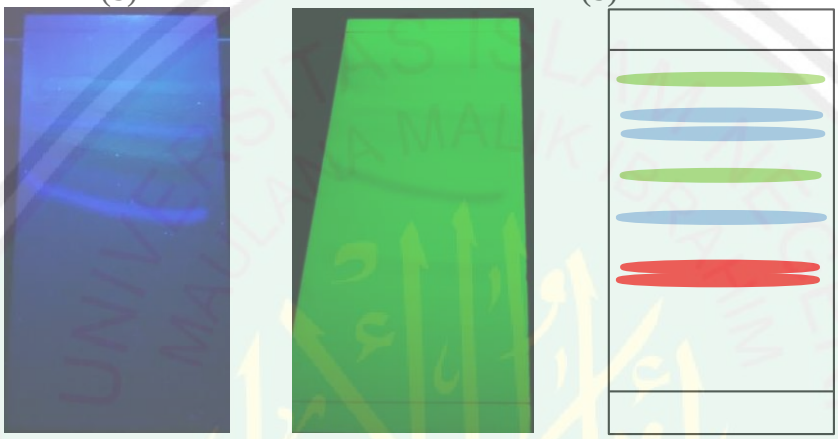


(a) (a)*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



(b) (b)*



(c) (c)*

Gambar L6.9 Hasil KLTP 366 nm (a) 20 menit (a)* ilustrasi 20 menit (b) 25 (b)* ilustrasi 25 menit (c) 30 menit (C) (c)* ilustrasi 30 menit

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG