

**IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK *n*-HEKSANA
BEKATUL BERAS HITAM TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina*
Leach) METODE ULTRASONIK VARIASI LAMA EKSTRAKSI**

SKRIPSI

**Oleh :
DITA NUR ADKHANISSA RETNANI
NIM. 18630079**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK n-HEKSANA
BEKATUL BERAS HITAM TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina*
Leach) METODE ULTRASONIK VARIASI LAMA EKSTRAKSI**

SKRIPSI

**Oleh :
DITA NUR ADKHANISSA RETNANI
NIM. 18630079**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S1)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK n-HEKSANA
BEKATUL BERAS HITAM TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina*
Leach) METODE ULTRASONIK VARIASI LAMA EKSTRAKSI**

SKRIPSI

Oleh :
DITA NUR ADKHANISSA RETNANI
NIM. 18630079

Telah Diperiksa dan Disetujui
Tanggal :

Pembimbing I


Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II


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

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Rachmawati Hingsih, M.Si
NIP. 19810917 200801 2 010

**IDENTIFIKASI DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK n-HEKSANA
BEKATUL BERAS HITAM TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia Salina*
Leach) METODE ULTRASONIK VARIASI LAMA EKSTRAKSI**

SKRIPSI

Oleh:
DITA NUR ADKHANISSA RETNANI
NIM. 18630079

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 22 Juni 2023**

Penguji Utama	: Dr. Anik Maunatin, M.P NIDT. 19760105 20180201 2 248	()
Ketua Penguji	: Nur Aini, M.Si NIP. 19840608 201903 2 009	()
Sekretaris Penguji	: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P NIP. 19750410 200501 2 009	()
Anggota Penguji	: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc NIDT. 19900906 20180201 2 239	()

Mengetahui
Ketua Program Studi

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



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dita Nur Adkhanissa Retnani
NIM : 18630079
Program Studi : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Identifikasi Dan Uji Toksisitas Ekstrak *n*-Heksana Bekatul Beras Hitam Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina* Leach) Metode Ultrasonik Variasi Lama Ekstraksi

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

Malang, 13 Juni 2023
Yang membuat pernyataan,



Dita Nur Adkhanissa Retnani
NIM. 18630079

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin..

Puji Syukur kepada Allah Swt. yang telah menggariskan takdir terbaik dari butiran-butiran harapan yang selalu dipanjatkan sehingga tugas akhir saya yang masih jauh dari kata sempurna ini dapat terselesaikan. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

Kedua orang tua saya tercinta, Almarhum Bapak Sukanto dan Almarhumah Ibu Suliani yang senantiasa memanjatkan doa terbaik untuk saya semasa hidupnya, memberikan motivasi tak terhingga dan dukungan baik moril maupun materil untuk saya sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini meskipun tanpa mereka. Maaf dan terima kasih, do'a baik selalu menyertai bapak dan ibu, aamiin.

Kakak saya tercinta, Dimas Pristovani Riananda dan Nihayatus Sa'adah yang senantiasa selalu mendo'akan dan menghibur saya serta memberikan dukungan baik moril maupun materil selama proses perkuliahan hingga kepenulisan skripsi ini. Maaf dan terima kasih, semoga sehat selalu dan do'a baik selalu menyertaimu.

Seluruh dosen kimia UIN Malang khususnya Ibu Nur Aini, M.Si selaku dosen wali yang selalu memotivasi saya selama perkuliahan. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P dan Ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku pembimbing yang selalu memberikan dukungan dan bimbingannya.

Teman-teman kimia 2018, khususnya kimia C 2018, teman-teman yang telah membantu proses di laboratorium, teman-teman SMA (Intan Nabila, Bobby, Rendra, Dwi Yunista), Teman dari maba hingga sekarang (Odelia, Widya, Kanty, Anwar, Zaid, Anam), sepupu (Gustin Novitasari) dan Ary Abdul Hafidh yang selalu menemani, memberi dukungan, dan mendengarkan segala keluh kesah saya sampai sekarang. Serta seluruh keluarga yang selalu mendukung dan mendo'akan selama proses perkuliahan maupun penelitian sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih orang-orang baik atas do'a baik, motivasi, nasihat, dan bantuan yang selalu diberikan. Semoga Allah membalas kebaikan yang diberikan.

MOTTO

Allah Maha Baik disetiap kondisi☺

"Keluarga mungkin meninggalkanmu, tetapi cintanya akan selalu menyertai sisa perjalananmu." ~ *Hello Ghost 2023*

“Takut akan kesendirian, solusinya adalah berpegangan dengan kesendirian agar tidak ada lagi namanya ditinggalkan.”

“멈춰있지만 어둠에 숨지 마
빛은 또 떠오르니깐”
Life Goes On - BTS

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. atas limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi penelitian dengan judul **“Identifikasi Dan Uji Toksisitas Ekstrak *n*-Heksana Bekatul Beras Hitam Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina Leach*) Metode Ultrasonik Variasi Lama Ekstraksi”**. Semoga semua yang penulis upayakan dapat memberikan manfaat kepada pembaca. Selawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada *Habibanaa wa Nabiyanaa* Muhammad saw. Selanjutnya penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi penelitian ini, khususnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing, memotivasi dan mengarahkan penulis.
5. Ibu Lulu’atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku dosen pembimbing agama yang telah membimbing, memotivasi dan mengarahkan penulis.
6. Ibu Nur Aini, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan, perhatian, dan motivasi untuk selalu berkembang.
7. Seluruh dosen program studi kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman dan wawasan kepada penulis.
8. Almarhum Bapak Sukamto, Almarhumah Ibu Suliani, dan kakak penulis yaitu Dimas Pristovani dan Nihayatus serta seluruh keluarga penulis yang selalu mendo’akan dan memberikan dukungan baik moril maupun materil.
9. Teman-teman yang selalu ada, yang selalu memberikan dukungan dan bantuan yaitu Odelia, Widya, Kanty, Anwar, Zaid, Anam, Intan, Dwi

Yunista, Bobby, Rendra, Rista dan teman hidup hingga saat ini Ary Abdul Hafidh.

10. Seluruh anggota BTS. Kim Namjoon, Kim Seokjin, Min Yoongi, Jung Hoseok, Park Jimin, Kim Taehyung, dan Jeon Jungkook yang selalu memberikan hiburan, membangkitkan semangat, dan motivasi kepada penulis.
11. Teman-teman kimia 2018, khususnya kimia C 2018 dan semua teman yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Seluruh pihak yang berkontribusi dalam penulisan skripsi ini yang penulis tidak mampu menyebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran akan penulis terima dengan lapang dada dan mohon maaf kepada semua pihak apabila terdapat kesalahan selama penyusunan. Semoga tulisan ini memberikan manfaat yang sebesar-besarnya.

Malang, 13 Juni 2023

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Bekatul Beras Hitam	7
2.1.1. Morfologi Bekatul Beras Hitam	7
2.1.2. Kandungan Senyawa Aktif Bekatul Beras Hitam.....	8
2.1.3. Manfaat Bekatul Beras Hitam.....	9
2.2 Ekstraksi Metode Ultrasonik.....	11
2.3 Uji Toksisitas dengan <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	13
2.4 Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder	16
2.4.1 Flavanoid	16
2.4.2 Alkaloid	17
2.4.3 Saponin	17
2.4.4 Tannin	18
2.4.5 Triterpenoid	19
2.4.6 Steroid.....	20
2.5 Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Hitam Menggunakan Spektrofotometer FTIR	21

BAB III METODOLOGI	23
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.2.1 Alat.....	23
3.2.2 Bahan	23
3.3 Rancangan Penelitian	24
3.4 Tahapan Penelitian	24
3.5 Pelaksanaan Penelitian	25
3.5.1 Preparasi sampel	25
3.5.2 Analisis Kadar Air secara Gravimetri.....	25
3.5.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Hitam	26
3.5.4 Uji Toksisitas dengan Larva Udang (<i>Artemia salina L</i>).....	26
3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dengan Reagen	28
3.5.6 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Hitam menggunakan Spektrofotometer FTIR	29
3.5.7 Analisa Data.....	30
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 32
4.1. Preparasi Sampel.....	32
4.2. Penentuan Kadar Air Secara Gravimetri.....	33
4.3. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Bekatul Beras Hitam Menggunakan Metode Ultrasonik	33
4.4. Uji Toksisitas Bekatul Beras Hitam.....	35
4.4.1. Penetasan Larva Udang <i>Artemia salina L</i>	35
4.4.2. Uji Toksisitas	35
4.5. Uji Fitokimia.....	38
4.6. Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR.....	41
4.7. Pembahasan Hasil Penelitian dalam Prespektif Islam	44
 BAB V SARAN DAN KESIMPULAN	 47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
 DAFTAR PUSTAKA	 48
LAMPIRAN.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	57
Lampiran 2. Skema Kerja	57
Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan	64
Lampiran 4. Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan.....	68
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	74

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi komponen makro dan bioaktif bekatul hitam	9
Tabel 2.2 Penelitian menggunakan ekstraksi ultrasonik	13
Tabel 2.3 Nilai LC ₅₀ ekstrak berpotensi sebagai senyawa bioaktif	15
Tabel 2.4 Kategori tingkat toksisitas ekstrak	15
Tabel 3.1 Data pengolahan LC ₅₀ pada minitab.....	30
Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak n-heksana bekatul beras hitam	34
Tabel 4.2 Hasil uji toksisitas ekstrak n-heksana bekatul beras hitam	37
Tabel 4.3 Nilai LC ₅₀ ekstrak n-heksana bekatul beras hitam.....	37
Tabel 4.4 Hasil uji fitokimia ekstrak bekatul beras hitam	39
Tabel 4.5 Interpretasi spektra FTIR ekstrak bekatul beras hitam	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 (A) Beras hitam, (B) Bekatul beras hitam.....	8
Gambar 2.2 Larva artemia salina leach fase nauplii	14
Gambar 2.3 Struktur flavonoid	16
Gambar 2.4 Struktur senyawa alkaloid (Piridina).....	17
Gambar 2.5 Struktur saponin terikat steroid	18
Gambar 2.6 Struktur tannin.....	19
Gambar 2.7 Struktur terpenoid.....	19
Gambar 2.8 Struktur steroid.....	20
Gambar 2.9 Spektrum ekstrak rice bran oil	22
Gambar 4.1 Sampel bekatul beras hitam.....	32
Gambar 4.2 Hasil ekstraksi variasi waktu (a) E1, (b) E2, (c) E3.....	35
Gambar 4.3 Dugaan reaksi yang terjadi pada senyawa steroid dan triterpenoid...	40
Gambar 4.4 Hasil spektra FTIR ekstrak n-heksana bekatul beras hitam.....	42

ABSTRAK

Retnani, Dita Nur Adkhanissa. 2023. **Identifikasi Dan Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Hitam Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina Leach*) Metode Ultrasonik Variasi Lama Ekstraksi**. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.; Pembimbing II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc

Kata Kunci : *Bekatul Beras Hitam, Ekstraksi Ultrasonik, Uji Toksisitas, Uji Fitokimia*

Bekatul beras hitam merupakan hasil samping penggilingan padi menjadi beras. Beberapa penelitian menunjukkan bekatul beras hitam mengandung antosianin dan telah dibuktikan mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji toksisitas hasil ekstraksi ultrasonik n-heksana bekatul beras hitam dan identifikasi menggunakan uji fitokimia dan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

Bekatul beras hitam diekstraksi dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut n-Heksana dengan variasi waktu 10, 20, dan 30 menit. Hasil masing-masing ekstrak kemudian diuji toksisitasnya menggunakan metode *Brine Shrimp Lehality Test* (BSLT). Selanjutnya, hasil terbaik ekstrak bekatul beras hitam diidentifikasi senyawa bioaktifnya dengan uji fitokimia dan menggunakan FTIR.

Penelitian menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas terbaik bekatul beras hitam dengan pelarut n-heksana pada waktu 30 menit yaitu memiliki nilai LC_{50} sebesar 295,907 ppm. Hasil yang diperoleh pada uji fitokimia mengandung senyawa bioaktif steroid dan triterpenoid. Hasil identifikasi menggunakan FTIR menunjukkan adanya gugus $-OH$, CH_2 , $C=O$, $C=C$, $C-O$, and Geminal Dimetil.

ABSTRACT

Retnani, Dita Nur Adkhanissa. 2023. **Identification And Toxicity Test Black Rice Bran *n*-Hexane Extract To Shrimp Larvae (*Artemia Salina Leach*) Using Variety Of Time Extractions** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.; Supervisor II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc

Keywords: *Black Rice Bran, Ultrasonic extraction, Toxicity test, Phytochemical test*

Black rice bran is a by-product of milling rice into rice. Several studies have shown that black rice bran contains anthocyanins and has been proven to have high antioxidant activity. This study aims to examine the toxicity of black rice bran *n*-hexane ultrasonic extraction and identification using phytochemical tests and Fourier Transform Infra Red (FTIR).

Black rice bran was extracted by ultrasonic method using *n*-Hexane solvent with variations of 10, 20, and 30 minutes. The results of each extract were then tested for toxicity using the Brine Shrimp Lehality Test (BSLT) method. Furthermore, the best results of black rice bran extract were identified by its metabolite compounds with phytochemical tests and using FTIR.

The study showed that the best toxicity test results for black rice bran by dissolving *n*-hexane at 30 minutes had an LC₅₀ value of 295,907 ppm. The results obtained in the phytochemical test contained bioactive compounds of steroids and triterpenoids. The results of the aid using FTIR showed the presence of –OH, CH₂, C=O, C=C, C-O, and geminal dimethyl.

مستخلص البحث

رتناني، د.ن.أ. ٢٠٢٣. التحديد و اختبار السموم لمستخلص n-Heksana من نخالة الأرز الأسود إلى يرقات الجمبري (Artemia Salina Leach) بطريقة الموجات فوق الصوتية تنوع طويل الاستخلاص. البحث العلمي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الدوتورة أعين اللجنة الماجستير، المشرفة الثانية: لؤلؤة الحميدة العليا الماجستير.

الكلمات المفتاحية: نخالة الأرز السواد، استخلاص فوق صوتية، اختبار السموم، اختبار المواد الكيميائية النباتية.

نخالة الأرز السواد هو حصيلة جانبي المطحنة الرز (padi) حتى يصبح الأرز (beras). يدل بعض الأبحاث بأن نخالة الأرز السواد تحتوي الأنثوسيانين ولديها نشاط في المضادة للأكسدة العليا. يهدف هذا البحث لاختبار سموم حصيلة الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية ن-الهكسان لنخالة الأرز السواد والتحديد باستخدام اختبار المواد الكيميائية النباتية و (FTIR) *Fourier Transform Infra Red*.

تستخلص نخالة الأرز السواد بطريقة الموجات فوق الصوتية وتستخدم مذيب ن-الهكسان بتنوع الوقت ١٠، ٢٠، و ٣٠ دقائق. وأما حصيلة كل المستخلص يختبر سمومها بطريقة (Brine Shrimp Lehalty Test) (BSLT). وبالتالي، تحدد أفضل المحاصيل من استخلاص نخالة الأرز السواد لمركباتها النشطة بيولوجيا باختبار المواد الكيميائية النباتية و (FTIR) *Fourier Transform Infra Red*.

يدل هذا البحث بأن حصيلة اختبار المواد الكيميائية النباتية الأفضل لنخالة الأرز السواد بمذيب ن-الهكسان في وقت ٣٠ دقائق هي تملك قيمة (LC₅₀) ٢٩٥،٩٠٧ ف ف م. تحتوي الحصيلة في اختبار المواد الكيميائية النباتية على مركبات نشطة بيولوجيا من المنشطات وترايتيرينويدات. وحصيلة التحديد ب (FTIR) تدل على وجود قوة (OH, CH₂, C=O, C=C, C-O) و (Geminal Dimetil).

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Beras hitam (*Oryza sativa* L.) merupakan jenis beras sebagai bahan makanan pokok seperti beras putih dan beras merah. Penggunaan beras hitam sendiri oleh masyarakat masih sangat jarang. Bekatul beras hitam diproduksi melalui penggilingan beras hitam, kaya akan antosianin. Riset menunjukkan, Semakin pekat warna beras, maka kadar antosianinnya semakin tinggi sehingga kadar antosianin tertinggi terdapat pada bekatul beras hitam (Estiasih, dkk., 2021). kandungan bekatul yang melimpah tidak sebanding dengan pemanfaatannya yang masih rendah. Allah berfirman dalam Q.S Ad-Dukhan ayat 39:

مَا خَلَقْنَاهُمَا إِلَّا بِالْحَقِّ وَلَكِنَّ أَكْثَرَهُمْ لَا يَعْلَمُونَ

Artinya : *“Tidaklah Kami ciptakan keduanya (langit dan bumi) melainkan dengan haq (benar), tetapi kebanyakan mereka tidak mengetahui.”* (Q.S Ad-Dukhan : 39)

Menurut Quthb (2004) pada faktanya ketika kita mentadaburi apa yang ada dalam penciptaan langit dan bumi, berupa ketepatan, hikmah, tujuan yang jelas, dan keserasian yang mengagumkan, niscaya dalam hati kita akan terketuk pemikirannya bahwa penciptaan ini mempunyai tujuan dan tak ada sikap main-main pada-Nya. Ia berdiri di atas kebenaran yang tak ada kebatilan pada-Nya. Termasuk halnya bekatul meskipun hanyalah limbah dari penggilingan beras, tetapi juga memiliki kandungan senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai obat dan sebagian memiliki fungsi medisinal setelah melalui proses etnomedik atau penggunaan sebagai obat tradisional (Cavoski, dkk., 2011)

komposisi bekatul memiliki kandungan minyak bekatul yang relatif cukup besar dibandingkan komponen kimia lainnya yaitu 12-22% minyak, 10-15% kelembaban, 11-17% protein, 6-14% serat, 8-17% abu, mineral, vitamin, dan komponen fenolik. Selain itu, bekatul juga memiliki kandungan asam lemak seperti asam oleat (38,4%), linoleate (34,4%), linolenat (2,2%), dan asam lemak stearat (2,9%) (Pourali, 2010). Minyak bekatul memiliki kemampuan aktivitas antioksidan dikarenakan mengandung suatu senyawa seperti tokoferol, tokotrienol, dan γ -oryzanol yang dapat menghilangkan radikal bebas, serta asam ferulat mampu menghambat kejadian kencing manis, penyakit Alzheimer, mencegah kejadian penyakit jantung dan kanker (Adom K dan Liu R, 2002).

Pemilihan metode ekstraksi sangat penting dilakukan karena hasil ekstraksi akan mencerminkan tingkat keberhasilan metode tersebut (Abubecker, 2013). Keunggulan metode ekstraksi ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi, dibandingkan ekstraksi konvensional, metode ultrasonik ini lebih aman, lebih singkat, dan meningkatkan jumlah rendemen kasar (Zou TB, 2014). Menurut Lestiani dan Lanny (2008) tingkat kepolaran pelarut juga menentukan jenis dan jumlah senyawa yang dapat diekstrak dari bahan. Pelarut akan mengekstrak senyawa yang mempunyai kepolaran yang sama atau mirip dengan kepolaran pelarut yang digunakan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Norhaizan, dkk., (2011) bekatul beras putih diekstraksi dengan pelarut n-heksana, menggunakan metode ultrasonik *water bath* selama 30 menit. Hasil asam fitat yang diekstraksi dari bekatul menginduksi penghambatan pertumbuhan yang nyata pada sel kanker ovarium, payudara dan hati dengan nilai IC_{50} masing-masing 3,45 ; 3,78; dan 1,66 mM. Menurut Susanti, dkk., (2015) ekstraksi bekatul

menggunakan pelarut n-heksana memberikan hasil rendemen yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut lainnya. Hal ini kemungkinan besar terkait dengan sifat minyak bekatul yang non polar, sehingga minyak bekatul cenderung larut ke pelarut yang bersifat non polar juga dengan rendemen tertinggi 15,50%. Hasil penelitian Djaeni dan Listyadevi (2019) mengekstrak bekatul beras putih pelarut n-heksana menggunakan metode ultrasonik menunjukkan kandungan antioksidan tertinggi mencapai 33.86 ppm.

Uji fitokimia merupakan metode analisis untuk menentukan jenis metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak bekatul beras hitam. Metode ini digunakan untuk mendeteksi golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid (Ikalinus dkk., 2015). Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Ulfa (2016) Diketahui bahwa ekstrak etanol, kloroform dan petroleum eter bekatul beras putih mengandung senyawa triterpenoid dan steroid. Berdasarkan penelitian Jannah (2020) Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana bekatul beras putih mengandung senyawa triterpenoid dan steroid. Berdasarkan pengujian skrining fitokimia oleh Kharisma dan Safitri (2020) dilakukan pengekstrakan bekatul padi beras putih (*Oryza sativa* L.) menggunakan pelarut etanol 96% positif mengandung senyawa aktif alkaloid, flavonoid dan tanin.

Pentingnya dilakukan uji toksisitas pada bekatul beras hitam karena berbagai hasil penelitian telah menunjukkan bahwa bekatul mempunyai nilai gizi tinggi dan mengandung senyawa bioaktif (Auliana, 2011). Antosianin dalam bekatul beras hitam mempunyai kemampuan untuk menurunkan gula darah (Wahyuni, dkk., 2020). Penggunaan bekatul sebagai obat harus dilakukan uji

toksisitas terlebih dahulu untuk melihat nilai toksik dari bekatul beras hitam agar dapat dikatakan aman untuk dijadikan obat.

Uji toksisitas dari bekatul beras hitam ini menggunakan pengujian dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* sebagai hewan uji. prinsip uji ini melihat dan mendeteksi adanya efek toksik yang dihasilkan pada ekstrak tanaman dengan cara mengamati respon kematian pada hewan yang akan diuji. Keunggulan metode ini yaitu cepat, sederhana, murah, dapat dipertanggungjawabkan dan tanpa penanganan khusus, (Kristanti, 2008). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Jannah (2020) mengekstrak bekatul beras putih dengan variasi pelarut etanol, n-heksana dan etil asetat. memiliki nilai toksisitas terbaik pada ekstrak n-heksana lama ekstraksi 20 menit dengan LC_{50} sebesar 592,901 ppm. Berdasarkan penelitian Jannah (2021) mengekstraksi daun salam selama 30 menit, memiliki nilai terbaik LC_{50} pada ekstrak n-heksana sebesar 629,581 ppm.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan uji toksisitas bekatul beras hitam terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) untuk mengetahui tingkat merusaknya suatu zat jika dipaparkan terhadap organisme yang menggunakan metode ekstraksi ultrasonik dengan pelarut *n*-heksana variasi lama ekstraksi 10, 20, dan 30 menit. Sedangkan uji toksisitas ini dilakukan dengan metode BSLT yang merupakan uji awal, dilakukan untuk mengetahui aktivitas toksik suatu senyawa dalam ekstrak. Kemudian dilanjutkan identifikasi ekstrak *n*-heksana dengan uji fitokimia dan dianalisa menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) untuk mengetahui gugus fungsi senyawa metabolit sekunder.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh lama ekstraksi Bekatul Beras Hitam terhadap nilai toksisitas larva udang (*Artemia salina Leach.*)?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak *n*-heksana dengan menggunakan uji fitokimia dan FTIR?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh lama ekstraksi Bekatul Beras Hitam terhadap nilai toksisitas larva udang (*Artemia salina Leach.*)
2. Untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder ekstrak *n*-heksana dengan menggunakan uji fitokimia dan FTIR

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Sampel berasal dari Trawas, Mojokerto, Jawa Timur
2. Sampel yang digunakan adalah bekatul beras hitam
3. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 42 KHz dengan pelarut *n*-heksana
4. Menggunakan Variasi lama ekstraksi 10, 20, dan 30 menit.

5. Uji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan larva udang (*Artemia salina L.*)
6. Identifikasi senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan uji fitokimia dan spektrofotometer FTIR

1.5 Manfaat

1. Hasil riset ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai kandungan senyawa pada bekatul beras hitam
2. Dapat memberikan informasi tentang besarnya kadar toksisitas LC_{50} ekstrak n-heksana bekatul beras hitam hasil ekstraksi ultrasonik terhadap larva udang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

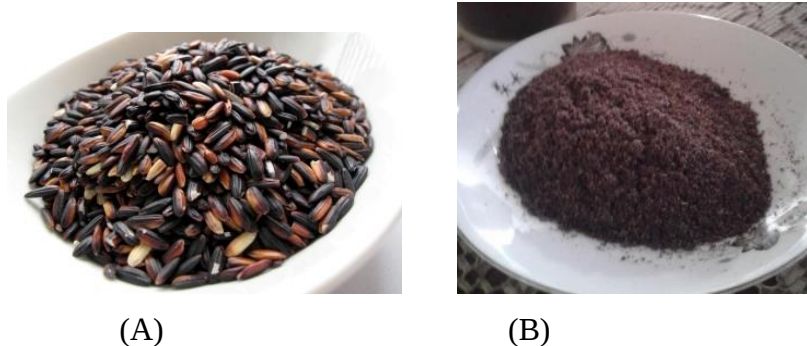
2.1 Bekatul Beras Hitam

2.2.1. Morfologi Bekatul Beras Hitam

Beras hitam berasal dari tanaman padi hitam, dengan nama ilmiah *Oryza sativa L.* Beras hitam merupakan beras yang dihasilkan dari jenis padi hitam yang umur panennya cukup lama dibanding padi putih (Sa`adah, I.R. dkk., 2016). Menurut Tjitrosoepomo (2005) kedudukan taksonomi dari beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Bangsa : Poales (Glumiflorae)
Famili : Poaceae (Graminea)
Marga : *Oryza*
Spesies : *Oryza sativa L. indica*

Adapun hasil samping dari penggilingan padi agar menjadi beras yaitu bekatul. Bekatul yang dihasilkan dari penggilingan padi dapat mencapai 8-12% dari jumlah total padi (Nursalim dan Zalni, 2007). Bekatul beras hitam menyusun 13,19% biji utuh beras hitam (Shao, dkk., 2014). Lapisan bekatul beras hitam lebih tebal dibandingkan lapisan bekatul beras merah, sehingga bekatul yang dihasilkan dari penggilingan beras hitam lebih banyak dibandingkan beras merah pada tingkat penyosohan yang sama (Paiva, dkk., 2014). Beras hitam dan bekatul beras hitam dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 (A) Beras Hitam (Holland, 2016), (B) Bekatul beras Hitam (Unknown, 2018)

2.2.2. Kandungan Senyawa Aktif Bekatul Beras Hitam

Bekatul beras hitam merupakan salah satu bahan tanaman yang kaya akan antioksidan (Chanphrom, 2007; Sompong, dkk., 2011), dan antosianin yang tinggi (Yawadio, dkk., 2007). Bekatul banyak mengandung komponen tanaman bermanfaat yang biasa disebut sebagai fitokimia, berbagai vitamin (seperti thiamin, niacin, vitamin B-6), mineral (besi, fosfor, magnesium, potassium), asam amino, asam lemak esensial dan antioksidan (Hadipernata, 2006). Dalam minyak bekatul adanya kandungan tokoferol, oryzanol dan β -karoten merupakan golongan antioksidan non polar (Mumpuni dan Ayustaningwarno, 2013), adapun juga senyawa yang termasuk non polar antara lain hidrokarbon dan TAG (triasilgliserol) (Yuliasari, 2021). komponen bioaktif yang ada dalam bekatul hitam ditunjukkan dalam pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi komponen makro dan bioaktif bekatul hitam

Komponen makronutrien dan bioaktif	Bekatul Beras Hitam
Abu (%) ¹	9,80 ±0,06
Protein (%) ¹	5,07 ±0,08
Lemak (%) ¹	11,77 ±0,00
Karbohidrat (%) ¹	12,46 ±0,66
Serat pangan total (%) ¹	71,04 ±0,15
Flavonoid bebas (mg ekuivalen quercetin/ 100g) ²	23,54 ±0,29
Flavonoid terikat (mg ekuivalen quercetin/ 100g) ²	1,21 ±0,22
Total Flavonoid (mg ekuivalen quercetin/ 100g) ²	24,75 ±0,51
Antosianin (mg ekuivalen sianidin glukosida/ 100g) ²	340,78 - 526,28
Fenol Bebas (mg GAE/ 100g) ²	111,30 - 297,20
Fenol Terikat (mg GAE/ 100g) ²	452,08 - 823,88
Total Fenol (mg GAE/ 100g) ²	11,27 ±0,38

Sumber: ¹Kalpanadevi, dkk., (2018)²Ghasemzadeh, dkk., (2018)

2.2.3. Manfaat Bekatul Beras Hitam

Manusia dan tumbuhan dalam kehidupan sangatlah erat kaitannya. Dalam Al-Qur'an sering dijelaskan mengenai tumbuh-tumbuhan, sebagai bukti kekuasaan Allah Swt. Tingginya manfaat tumbuhan dalam segala bidang harus dirasakan secara berkelanjutan bagi makhluk hidup yang lain dan dimanfaatkan sebaik-baiknya. Allah Swt. berfirman dalam Q.S Thaha ayat 53:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَ لَكُم فِيهَا سُبُلًا وَانزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً ۖ فَخَرَجْنَا بِهِ ۖ
أَشْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya: “(Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, dan menjadikan jalan-jalan di atasnya bagimu, dan yang menurunkan air (hujan) dari langit.” Kemudian Kami tumbuhkan dengannya (air hujan itu) berjenis-jenis aneka macam tumbuh-tumbuhan.”

Menurut Shihab (2002) dalam tafsir Al-Mishbah menjelaskan, bahwa Allah menurunkan air dari langit, dan menumbuhkannya berbagai jenis tumbuhan merupakan bagian dari hidayah Allah Swt. kepada manusia dan

binatang guna memanfaatkan buah-buahan dan tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan bagi kelanjutan hidupnya. Adanya tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasa merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan lagi membuktikan betapa agung penciptaan-Nya. Setiap macam tumbuhan diciptakan Allah untuk kemaslahatan umat manusia. Sehingga dapat digunakan sebagai sumber pangan bagi manusia dan hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Manfaat tumbuhan salah satunya yaitu bekatul yang merupakan produk samping dari pengolahan hasil panen padi. Meskipun limbah, bekatul memiliki banyak manfaat. Bekatul dapat diolah menjadi tepung yang dapat digunakan sebagai bahan substitusi roti, cookies, dan minuman berserat. Untuk dijadikan sebagai pangan, bekatul dapat dicampur dengan bahan lain pada pembuatan biskuit, kue, produk breakfast cereal, dan lain-lain (Ardiansyah, 2020). Pemanfaatan bekatul selain sebagai bahan pangan, diyakini oleh petani organik mampu mengendalikan gulma sawah yang dapat dimanfaatkan sebagai herbisida nabati (Sudewi, 2021).

Bekatul beras hitam mengandung serat yang cukup tinggi dapat digunakan untuk mengontrol diabetes (Quresh, dkk., 2002). Komponen serat pangan dan senyawa bioaktif merupakan komponen non gizi yang dapat mencegah kanker kolon (Nam, dkk., 2006). Bekatul merupakan bahan pangan yang bersifat hipoalergenik dan merupakan sumber serat pangan (dietary fiber) yang baik (Fatkurahman, dkk., 2012). Serat bekatul telah digunakan menurunkan kadar lemak dalam produk pangan dan meningkatkan serat pangan (Sharif, dkk., 2009; Choi, dkk., 2010). Bekatul beras hitam juga mengandung flavonoid golongan apigenin, kuersetin dan antosianin dan telah

dibuktikan mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi. Selain sebagai antioksidan, juga mempunyai kemampuan menurunkan gula darah (Wahyuni dkk., 2020). Ekstrak bekatul beras hitam berpotensi menurunkan trigliserida, kolesterol dan kadar LDL, serta meningkatkan kadar HDL. Ekstrak bekatul beras hitam mampu meningkatkan nilai FRAP plasma, mampu menurunkan kadar MDA plasma, dan meningkatkan aktivitas enzim katalase. (Nurlaili, dkk., 2016). Bekatul merupakan produk sampingan dari pengolahan hasil panen padi yang juga dapat dimanfaatkan sebagai herbisida nabati untuk penanganan gulma pada tanaman (Sudewi, 2021).

2.2 Ekstraksi Metode Ultrasonik

Metode ultrasonik adalah metode yang menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang kavitasi akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz. Ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive* (Kuldiloke, 2002). Dengan bantuan ultrasonik, proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dengan menggunakan pelarut organik dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari bahan dipecah dengan getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Mason 1990).

Cara kerja metode ultrasonik dalam mengekstraksi yaitu terbentuknya gelombang ultrasonik dari pembangkitan ultrason secara lokal dari kavitasi mikro pada sekeliling bahan yang akan diekstraksi sehingga terjadi pemanasan pada bahan tersebut, yang pada akhirnya akan melepaskan senyawa ekstrak. Terdapat efek ganda yang dihasilkan, yaitu pengacauan dinding sel sehingga

membebaskan kandungan senyawa yang ada di dalamnya dan pemanasan lokal pada cairan dan meningkatkan difusi ekstrak. Energi kinetik dilewatkan ke seluruh bagian cairan, diikuti dengan munculnya gelembung kavitasi pada dinding atau permukaan sehingga meningkatkan transfer massa antara permukaan padat- cair. Efek mekanik yang ditimbulkan adalah meningkatkan penetrasi dari cairan menuju dinding membran sel, mendukung pelepasan komponen sel, dan meningkatkan transfer massa. Kavitasi ultrasonik menghasilkan daya patah yang akan memecah dinding sel secara mekanis dan meningkatkan transfer material (Liu, 2010).

Pemakaian metode ultrasonik dalam proses ekstraksi atau dalam proses pemurnian suatu senyawa memiliki waktu proses lebih singkat dan kualitas produk yang lebih baik . Ekstraksi berbantuan ultrasonik merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mendapatkan komponen bioaktif dengan tingkat volatilitas rendah dari tanaman (Chemat, dkk., 2009 dalam Widjanarko, dkk., 2011). Metode ultrasonik ini juga mampu memberikan efisiensi hasil, sederhana, mereduksi penggunaan pelarut dan suhu yang digunakan, serta penggunaan energi yang lebih rendah (Sun, dkk., 2013). Metode ekstraksi ultrasonik ini memberikan hasil rendemen ekstraksi yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi maserasi (Trusheva, dkk., 2007). Frekuensi yang biasa digunakan dalam *sonochemistry* berkisar antara 20 kHz sampai dengan 40 kHz (Wardiyati, 2004). Berikut beberapa kajian literatur yang mempengaruhi dari ekstraksi yaitu metode ekstraksi, pelarut, dan lama waktu ekstraksi serta rendemen yang dihasilkan dinyatakan dalam Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Penelitian menggunakan ekstraksi ultrasonik

Sampel	Pelarut	Deskripsi	Referensi
Bekatul	n-heksana	90 gram bekatul dengan pelarut n-heksan menggunakan variasi, yaitu perbandingan berat : volume sebesar 1:5, 1:10, 1:15. Proses ekstraksi dilakukan selama 15, 30, 45, 60 menit pada suhu 40, 50, 60°C. Rendemen tertinggi minyak bekatul didapatkan pada kondisi operasi suhu 60°C, rasio bahan/pelarut 1:5 ekstraksi 60 menit yaitu 11.34%	(Djaeni & Lisytadevi, 2019)
Labu kuning	Aseton, etil asetat, n-heksana	Menggunakan variasi pelarut yaitu aseton, etil asetat, n-heksan dan lama ekstraksi 5, 15, 25 menit. Hasil terbaik terdapat pada pelarut n-heksan dan lama ekstraksi 25 menit dengan rendemen 17.85%	(Diyah & Simon, 2015)
Bekatul	n-heksana: Isopropanol	Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi ialah n-Heksana : Isopropanol dengan perbandingan 1:3 (v/v). dengan waktu 10 menit menghasilkan rendemen 23,78 %	(Ismoyo, dkk. 2019)

2.3 Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji (BPOM RI,2020). Uji toksisitas dapat diketahui dari kematian hewan uji. Kematian dari hewan uji menunjukkan efek toksik dan batas keamanan dari kandungan senyawa yang terdapat pada sampel (Cassaret, 1975). Metode yang sering digunakan dalam uji toksisitas yakni *Brine Shrimp Lethality Test* atau yang disingkat dengan BSLT. dipilih untuk uji toksisitas karena larva udang sangat rentang oleh beberapa senyawa toksik. metode BSLT dapat digunakan sebagai skrining awal untuk antimalaria, antikanker,

antitumor, dan residu pestisida (Lisdawati, dkk., 2006). Metode ini menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji. Kelebihan dari larva udang diantaranya mudah diperoleh, perkembangbiakan cepat, harganya murah, metode percobaannya mudah, memerlukan sampel sedikit, dan tidak memerlukan tempat atau laboratorium khusus, dan hasilnya dapat dipercaya (Kristanti, 2008). Menurut Ganong dan Barret (2012) *Artemia salina* L diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom: Animalia
 Filum : Arthropoda
 Kelas : Crustacea
 Sub-Kelas: Branchiopoda
 Ordo : Anostraca
 Familia: Artemiidae
 Genus : Artemia
 Spesies: *Artemia salina* Leach

Artemia salina L. memiliki beberapa fase dalam pertumbuhannya yaitu kista, panggung payung, nauplii, remaja, dan dewasa (Gajardo & Beardmore, 2012). Fase yang digunakan untuk uji toksisitas adalah saat larva udang dalam bentuk nauplii aktif. Menurut Vanhaecke, dkk., (1981) usia yang paling sensitif untuk sebagian besar senyawa diuji adalah nauplii usia 48 jam. Bentuk *Artemia Salina* L. secara morfologi dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Larva *Artemia salina* Leach Fase Nauplii (Ates, dkk., 2016)

Parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya kandungan zat aktif tanaman yang bersifat sitotoksik yaitu dengan menghitung tingkat kematian larva udang. Ekstrak tersebut bisa disebut toksik bila nilai LC_{50} menyebabkan 50% kematian pada kurang dari 1000 ppm, sebaliknya jika harga $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ tidak toksik (Carballo, 2002). Parameter nilai LC_{50} digunakan untuk mengetahui adanya potensi aktivitas sitotoksik suatu sampel. LC_{50} didefinisikan sebagai dosis atau konsentrasi yang diberikan sekali (tunggal) atau beberapa kali dalam 24 jam dari suatu zat yang secara statistik diharapkan dapat mematikan 50% hewan coba (Priyanto, 2010). Parameter nilai LC_{50} ditunjukkan dalam Tabel 2.3 (Oratmangun, dkk., 2014).

Tabel 2.3 Nilai LC_{50} ekstrak berpotensi sebagai senyawa bioaktif

LC_{50} (ppm)	Potensi
<30	Antitumor atau antikanker
30-200	Antibakteri
200-1000	Pestisida

Uji toksisitas memiliki korelasi dengan uji sitotoksik apabila mortalitas terhadap *Artemia salina* Leach yang ditimbulkan memiliki nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Adapun penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai *Lethal Concentration* (LC_{50}) masing-masing dengan ketentuan kategori tingkat toksisitas ditunjukkan pada Tabel 2.4 (Meyer, dkk., 1982).

Tabel 2.4 Kategori tingkat toksisitas ekstrak

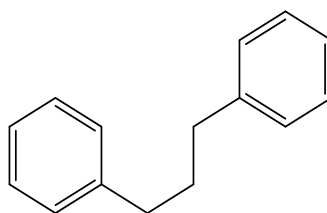
LC_{50} (ppm)	Kategori
<30	Sangat Toksik
30-1000	Toksik
>1000	Tidak Toksik

2.4 Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder

Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder dapat dilakukan dengan uji fitokimia. Analisis fitokimia merupakan bagian dari ilmu farmakognosi yang mempelajari metode atau cara analisis kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan atau hewan secara keseluruhan atau bagian-bagiannya, termasuk cara isolasi atau pemisahannya (Moelyono, 1996). Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, alkaloid, dan triterpenoid (Lenny, 2006).

2.4.1 Flavanoid

Flavonoid adalah salah satu bagian dari kelompok fenolik terbanyak di alam. Banyaknya senyawa flavonoid di alam disebabkan jenis tingkat dari hidrolasi, alkolasi, dan glikolasi yang melimpah. Struktur flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang memiliki susunan C6- C3- C6. Struktur senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Julianto, 2019).



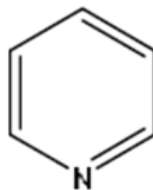
Gambar 2.3 Struktur flavonoid (Illing, dkk., 2017)

Identifikasi golongan senyawa flavonoid yang menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya warna jingga. Magnesium dan klorida akan bereaksi membentuk gelembung-gelembung yang merupakan gas H_2 . Sedangkan logam

Mg dan HCl pada uji ini bertujuan untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga terbentuk perubahan warna menjadi merah atau jingga (Prashant, 2011).

2.4.2 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa basa organik yang mengandung paling sedikit satu buah atom nitrogen dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Hammado & Illing, 2013). Alkaloid mempunyai rasa pahit, kadang-kadang berwarna, sifatnya yang basa tergantung dari pasangan elektron bebas pada nitrogen, dapat larut dalam pelarut organik dan kurang larut dalam air (Endarini, 2016). Struktur senyawa alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.4.

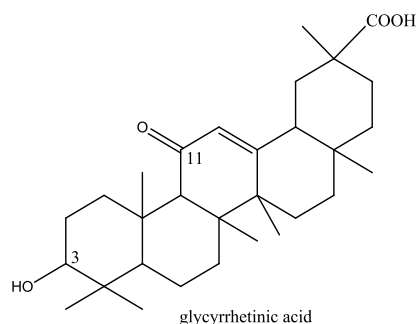


Gambar 2.4 Struktur Senyawa Alkaloid(Piridina) (Lenny, 2006)

2.4.3 Saponin

Sapogenin dan bentuk glikosidanya yang dikenal sebagai saponin. Glikosilasi biasanya terjadi pada posisi C-3. Keberadaan saponin sangat mudah ditandai dengan pembentukan larutan koloidal dengan air yang apabila dikocok menimbulkan buih yang stabil (karena sifatnya yang menyerupai sabun, maka dinamakan saponin). Saponin merupakan senyawa berasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin dan sering mengakibatkan iritasi terhadap selaput lendir. Saponin juga bersifat bisa menghancurkan butir darah merah lewat reaksi

hemolisis, bersifat racun bagi hewan berdarah dingin (Endarini, 2016). Struktur inti senyawa saponin dapat dilihat pada Gambar 2.5.

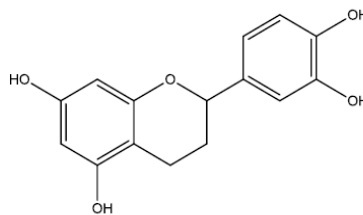


Gambar 2. 5 Struktur saponin terikat steroid (Nurzaman, dkk., 2018)

Uji fitokimia saponin dapat dilakukan dengan uji Forth yaitu sejumlah ekstrak dikocok dengan aquades panas. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap dengan ketinggian 1-10 cm selama 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tersebut tidak hilang (Dermawan, 2012).

2.4.4 Tannin

Tanin adalah golongan senyawa fenol yang terdapat pada buah, maupun daun yang belum matang. Tanin adalah senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekulmolekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak dan asam nukleat (Hidayah, 2016). Struktur senyawa tannin dapat dilihat pada Gambar 2.6.

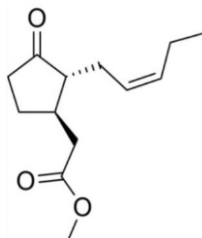


Gambar 2.6 Struktur tannin (Hidjrawan, 2018)

Uji tanin dilakukan dengan cara larutan ekstrak direaksikan dengan larutan besi (III) klorida. Penambahan FeCl_3 pada ekstrak sampel dalam air menyebabkan warna hijau, ungu, ataupun hitam yang kuat. Hal ini dikarenakan tanin akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} yang membentuk senyawa kompleks (Dewi dkk., 2013).

2.4.5 Triterpenoid

Triterpenoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder turunan dari terpenoid dengan kerangka karbonnya yang berasal dari enam satuan isoprena (2-metilbuta-1,3-diene) yaitu kerangka karbon yang terdiri dari enam satuan C_5 dan diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena (Balafif, 2013). Struktur senyawa triterpenoid dapat dilihat dilihat pada Gambar 2.7.



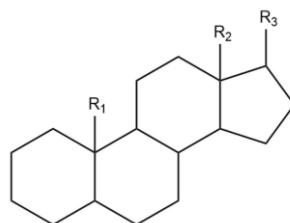
Gambar 2.7 Struktur Terpenoid (Julianto, 2019)

Terpenoid keberadaannya didasarkan pada kemampuan senyawa untuk membentuk warna dengan H_2SO_4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat.

Hasil positif terpenoid pada ekstrak ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan. Perubahan warna ini disebabkan karena terjadinya reaksi oksidasi pada golongan terpenoid/steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Dewi dkk., 2013; Tomahayu, 2014).

2.4.6 Steroid

Senyawa steroid merupakan kelompok bahan alam dimana strukturnya terdiri dari 17 karbon dengan struktur 1,2-siklopentenoperhidrofenatren. Senyawa ini terdiri dari beberapa kelompok senyawa yang dikelompokkan berdasarkan efek fisiologis yang ditimbulkan. Dilihat dari strukturnya, perbedaan pada kelompok ini ditentukan dari substituent R₁, R₂, dan R₃ yang terikat dengan kerangka dasar. Sedangkan perbedaan antara senyawa satu dengan yang lain dari substituen adalah panjangnya rantai karbon. Secara biogenetik, senyawa ini berasal dari triterpen (Endarini, 2016). Struktur inti senyawa steroid dapat dilihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur Steroid (Endarini, 2016).

Identifikasi golongan senyawa steroid menggunakan reaksi Lieberman-Burchard (anhidrida asetat-H₂SO₄ pekat) yang menghasilkan warna hijau kekuningan. Steroid akan mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat

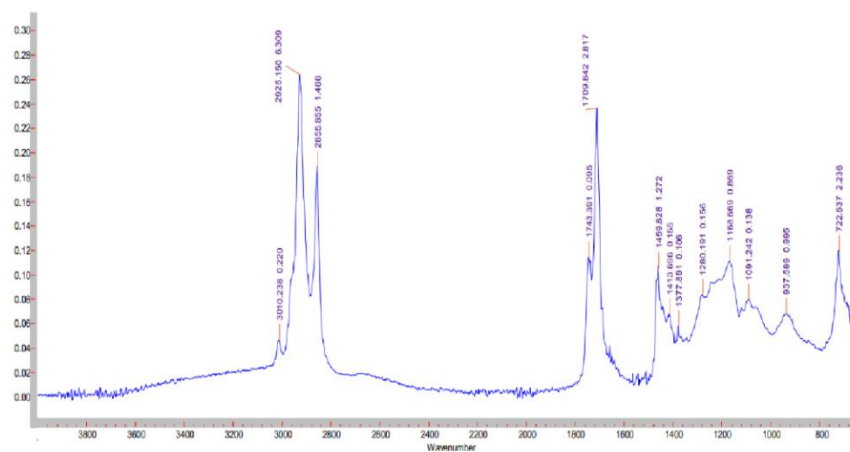
dan menghasilkan produk oksidasi yang memberikan reaksi warna hijau kekuningan (Sirait, 2007).

2.5 Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Hitam Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer FTIR merupakan suatu instrumen yang digunakan untuk menganalisis gugus fungsi suatu senyawa organik maupun anorganik. Analisis didasarkan pada serapannya terhadap radiasi elektromagnetik di daerah inframerah. Daerah serapan radiasi inframerah berkisar antara bilangan gelombang $650\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ (Panji, 2012). Prinsip kerja dari spektrofotometer FTIR yaitu mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan (Sankari, dkk., 2010).

Pada penelitian Hakim, dkk., (2020) dalam ekstrak *rice bran oil* dengan menggunakan pelarut *n*-heksana menunjukkan data spektrum FTIR menyebutkan pita-pita serapan khas dari asam lemak rantai panjang diantaranya vibrasi regang C-O pada daerah frekuensi $1168,66\text{ cm}^{-1}$, pita serapan regang C-H sp^3 alkana pada frekuensi $2855,85\text{ cm}^{-1}$ dan $2925,15\text{ cm}^{-1}$ dan pita serapan regang O-H pada frekuensi $3010,23\text{ cm}^{-1}$, Pita serapan regang C=O terdeteksi pada frekuensi $1743,39\text{ cm}^{-1}$, pada daerah pertengahan spektrum dan pita serapan C=C aromatik pada gelombang $1459,82\text{ cm}^{-1}$. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa gugus fungsi dari hasil analisis FTIR diantaranya gugus metil/etil, gugus ester, gugus hidroksil dan gugus

karbonil. Data yang diperoleh dari spektrofotometer FTIR diduga terdapat senyawa steroid/ triterpenoid. Menurut Ardji (2018) yang merupakan serapan yang khas untuk senyawa steroid adalah C-H dan O-H. Hasil FTIR dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Spektrum ekstrak *rice bran oil*

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Desember - Mei 2023 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas seperti gelas ukur, Erlenmeyer, pipet ukur, pipet tetes, mikro pipet, corong gelas, batang pengaduk, dan beaker glass. Alat lain yang digunakan seperti neraca analitik, kertas saring, rotary evaporator, desikator, botol vial, aerator, aquarium kecil, lampu 25 watt, kuvet, ultrasonik frekuensi 42 KHz, dan Spektrofotometer FTIR merk varian tipe FT 1000.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini adalah bekatul beras hitam dan larva udang (*Artemia salina L*) yang diperoleh di daerah Malang. Bahan yang digunakan yaitu n- heksana, aquades, serbuk Mg, HCl 2 M, HCl 37% FeCl₃ 1%, H₂SO₄ 96 %, DMSO, ragi roti, asam asetat anhidrat, KBr dan air laut. Reagen yang digunakan yaitu reagen Mayer dan reagen Dragendorff.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel bekatul disaring dengan ayakan 60 mesh dan dihitung kadar airnya. Serbuk yang diperoleh diekstrak dengan metode ultrasonik bath menggunakan pelarut n-heksana dengan waktu ekstrak yaitu 10, 20, dan 30 menit. Kemudian di evaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C.

Masing-masing ekstrak diuji toksisitasnya dengan metode BSLT menggunakan hewan uji larva udang *Artemia.salina Leach*. Uji ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 5 kali untuk masing-masing ekstrak. Konsentrasi larutan uji untuk BSLT yaitu 25, 50, 100, 250, 500, dan 1000 ppm.

Kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah kontrol media (tanpa ekstrak) dan DMSO. Kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang. Pengamatan dilakukan selama 24 jam untuk mengetahui kematian larva udang (*Artemia salina L.*) dan untuk mengetahui nilai LC_{50} masing-masing ekstrak. Proses selanjutnya adalah hasil terbaik toksisitas diidentifikasi senyawa metabolit sekundernya melalui uji fitokimia dengan uji reagen meliputi golongan flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, dan triterpenoid/steroid. Serta menggunakan spektrofotometer FTIR.

3.4 Tahapan Penelitian

- 1 Preparasi sampel
- 2 Analisis kadar air
- 3 Ekstraksi ultrasonik senyawa metabolit sekunder bekatul beras hitam
- 4 Uji toksisitas dengan larva udang

- 5 Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dengan reagen
- 6 Identifikasi senyawa metabolit sekunder bekatul beras hitam menggunakan FTIR
- 7 Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi sampel

Bekatul Beras Hitam sebanyak 200 gram diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh dan dibungkus menggunakan alumunium foil. Kemudian distabilisasi menggunakan oven selama 15 menit pada suhu 100°C, lalu didinginkan pada suhu ruang dan disimpan pada suhu 4 °C untuk analisis lebih lanjut (Moko, 2014)

3.5.2 Analisis Kadar Air secara Gravimetri

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 10 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 10 menit dan ditimbang, sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven 15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan (Azizah, 2016)

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

Dengan a berat cawan kosong, b berat cawan dan sampel sebelum dikeringkan dan c berat cawan dan sampel setelah dikeringkan.

3.5.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Hitam

Dimasukkan sampel yang sudah diayak sebanyak 30 gram dan pelarut n-heksana sebanyak 150 mL pada masing-masing Erlenmeyer 250 ml, dengan perbandingan 1:5 dengan lama ekstraksi 10 menit (E_1), 20 menit (E_2), dan 30 menit (E_3). Kemudian dimasukkan ke dalam *ultrasonic bath* dengan frekuensi 42 kHz. Hasil ekstraksi yang berupa larutan disaring sehingga didapat filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh dari masing-masing pelarut kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C. Masing-masing ekstrak tersebut ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan (3.2) (Djaeni dan Listyadevi, 2019)

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

Ekstrak bekatul 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 dengan Larva Udang (*Artemia salina* L)

3.5.4.1. Preparasi Larva *Artemia salina* L

Sebanyak 2,5 mg telur *A. salina* direndam dan diaerasi dalam wadah yang berisi air laut 250 mL dibawah cahaya lampu 25 watt. Telur *A. salina* akan menetas dan menjadi larva kurang lebih setelah 24 jam. Setelah berumur 48 jam larva udang siap digunakan untuk uji toksisitas (Rahmah, 2018).

3.5.4.2. Uji Toksisitas

Ekstrak n-heksana ditimbang sebanyak 200 mg dan dilarutkan menggunakan pelarutnya masing-masing sebanyak 20 mL. Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 25, 50, 100, 250, 500, dan 1000 μ L, kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Selanjutnya dimasukkan 100 μ L dimetilsulfoksida, 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 dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL sehingga konsentrasinya masing-masing larutan menjadi 25, 50, 100, 250 dan 500 ppm, Selanjutnya dimasukkan 10 ekor larva udang kemudian dilakukan pengamatan terhadap kematian larva udang selama 24 jam. Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 5 kali ulangan pada masing-masing ekstrak sampel.

Pembuatan kontrol dengan dimasukkan 1 mL pelarut dan diuapkan hingga kering kemudian ditambah 100 μ L dimetil sulfoksida (DMSO), setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok. Larutan dipindahkan dalam labu ukur 10 mL, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* dan ditambahkan air laut sampai volumenya menjadi 10 mL. Setelah itu, disimpan vial di bawah lampu pijar selama 24 jam kemudian diamati kematian larva udang (Mawwadah, 2019).

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{kematian}}{\text{jumlah larva uji (10 ekor)}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.3)$$

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{Jumlah keseluruhan larva} \dots\dots\dots(3.4)$$

3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dengan Reagen

Ekstrak terbaik hasil uji toksisitas kemudian di uji Kandungan senyawa aktifnya 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 (Harborne, 1987).

3.5.5.1 Uji Flavanoid

Ekstrak kasar bekatul sebanyak ± 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3 mL metanol dan dikocok. Selanjutnya dipanaskan tabung reaksi dan dikocok kembali lalu disaring. Fitrat yang dihasilkan ditambahkan dengan serbuk magnesium sebanyak 0,1 gram dan 2 tetes HCl 2 M (Harborne, 1987).

3.5.5.2 Uji Alkaloid

Ekstrak kasar bekatul sebanyak ± 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,5 mL HCl 2% kemudian larutan dibagi menjadi 2 tabung, tabung reaksi pertama ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorf dan tabung reaksi kedua ditambahkan 2-3 tetes reagen Meyer. Jika terdapat alkaloid terbentuk endapan kuning jingga jika dengan reagen Dragendorf dan terbentuk endapan putih atau kuning jika dengan reagen Meyer (Harborne, 1987).

3.5.5.3 Uji Saponin

Ekstrak kasar bekatul sebanyak ± 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah air ± 1 mL (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, kemudian ditestekan 2-3 tetes HCl 1 N, Jika terbentuk busa dengan ketinggian 1-3 cm selama 10 menit menandakan adanya senyawa saponin (Harborne, 1987).

3.5.5.4 Uji Tannin

Ekstrak kasar bekatul sebanyak ± 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi FeCl_3 1%, Jika warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan terdapat tannin (Harborne, 1987).

3.5.5.5 Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak kasar bekatul sebanyak ± 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Kemudian ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 1-2 mL melalui dinding tabung. Senyawa triterpenoid ditandai jika terbentuknya cincin kecoklatan atau keunguan sedangkan senyawa steroid terbentuk jika cincin berwarna hijau (Harborne, 1987).

3.5.6 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Hitam menggunakan Spektrofotometer FTIR

Ekstrak kasar hasil ekstraksi ultrasonik kemudian diidentifikasi dengan spektrofotometer FTIR merk varian tipe FT 1000. Hasil ekstrak sebanyak 1 mg

dihancurkan dengan 100 mg serbuk KBr secara homogen menggunakan mortar agate. Kemudian diukur pada panjang gelombang 4000-400 cm^{-1} . ditunggu proses pembacaan data dan muncul kromatogram pada komputer (Ulfa, 2016).

3.5.7 Analisa Data

Uji toksisitas menghasilkan data berupa angka kematian dari Larva Udang (*Artemia salina* Leach.). Hasil dari mortalitas masing-masing ekstrak dihitung menggunakan uji statistik minitab 19 untuk mengetahui nilai LC_{50} . Adapun data yang diperlukan pada minitab 19 dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Data pengolahan LC_{50} pada minitab

Konsentrasi (ppm)	Mortalitas	N
25	M1	50
50	M2	50
100	M3	50
250	M4	50
500	M5	50
1000	M6	50

Data yang tercantum pada Tabel 3.1 yang terdiri dari nilai konsentrasi, mortalitas dan N (jumlah larva yang diuji) akan di analisis menggunakan bantuan software minitab 19. proses analisis data dilakukan dengan cara pilih stat pada bagian minitab kemudian pilih *reability/survival*, lalu pilih probit analisis dimana probit analisis tersebut digunakan untuk menduga besarnya dosis efektif melalui penentuan konsentrasi. maka, pada bagian kolom data independen akan dimasukkan nilai konsentrasi dan pada bagian kolom dependen akan dimasukkan nilai mortalitas. Kemudian dipilih "OK" dan minitab akan otomatis memunculkan hasil dari analisis probit. Adapun

persamaan dasar probit yaitu yang terdapat pada persamaan 3.5 dan 3.6. (Rand dan Petrocelli, 1985 dalam Hendri, dkk. 2010).

$$y = a + bx \dots\dots\dots(3.5)$$

$$x = \frac{y-a}{b} \dots\dots\dots(3.6)$$

keterangan :

y = nilai probit kematian hewan uji (LC50%)

a = constant (y-intercept)

b = konsentrasi (slope/kemiringan regresi)

x = logaritma konsentrasi uji

Nilai LC₅₀ diperoleh dari :

$$y_{50} = a + bx_{50} \dots\dots\dots(3.7)$$

$$x_{50} = \frac{y_{50} - a}{b} \dots\dots\dots(3.8)$$

$$LC_{50} = \text{antilog} (x_{50} - 1) \dots\dots\dots(3.9)$$

LC₅₀ diperoleh dari persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5 (nilai probit dari 50% kematian hewan uji) sebagai y yang merupakan nilai tetapan transformasi persentase menjadi probit. Sehingga dihasilkan x yang merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mematikan larva udang pada persentase tertentu dengan nilai log konsentrasi. LC₅₀ dihitung dan diperoleh dari antilog nilai x. (Martiningsih, 2013).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul beras hitam (*Oryza sativa* L.) sebanyak 600 gram yang diperoleh dari Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur. Proses Preparasi diawali dengan pengayakan bekatul dengan ayakan 60 mesh. Penggunaan ayakan ukuran 60 mesh merupakan salah satu upaya untuk menghasilkan rendemen yang tinggi saat proses ekstraksi. Kemudian sampel diinkubasi di dalam oven sebagai proses stabilisasi bekatul yang bertujuan untuk menghentikan kerja enzim lipase pada bekatul agar tidak mengalami kerusakan, menurunkan kadar air dan dapat bertahan lama. Menurut Siswanti, dkk., (2018) Stabilisasi dengan oven meningkatnya umur simpan bekatul dan mencegah kerusakan akibat kerusakan oksidatif. Sampel bekatul beras hitam ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Sampel bekatul beras hitam

4.2. Penentuan Kadar Air Secara Gravimetri

Analisa kadar air dilakukan untuk menentukan kualitas dan ketahanan sampel dalam penyimpanan. Kandungan air yang berlebihan pada sampel akan mempercepat pertumbuhan mikroba dan juga dapat mempermudah terjadinya hidrolisa terhadap kandungan senyawa aktif dari suatu sampel (Handayani, dkk., 2017). Berdasarkan hasil pengukuran kadar air sampel bekatul beras hitam (*Oryza sativa* L.) diperoleh sebesar 2,408 % (Lampiran 4.1). Nilai kadar air yang diperoleh telah memenuhi standar Depkes RI tahun 1994 dengan batas maksimum kadar air yang disyaratkan sebesar 10%.

4.3. Ekstraksi Senyawa Bioaktif Bekatul Beras Hitam Menggunakan Metode Ultrasonik

Ekstraksi senyawa bioaktif bekatul beras hitam pada penelitian ini yaitu menggunakan metode ultrasonik. Prinsip dari ekstraksi ultrasonik yaitu adanya gelombang ultrasonik yang merambat pada medium yang dilewatinya, sehingga menimbulkan getaran. Getaran yang terjadi mengakibatkan terbentuknya gelembung kavitasi. Gelembung kavitasi tersebut akan memecah dinding sel dan pelarut akan berdifusi dalam sel, sehingga senyawa yang ada di dalam sel akan keluar dan terekstraksi (Arimpi & Pandia, 2019).

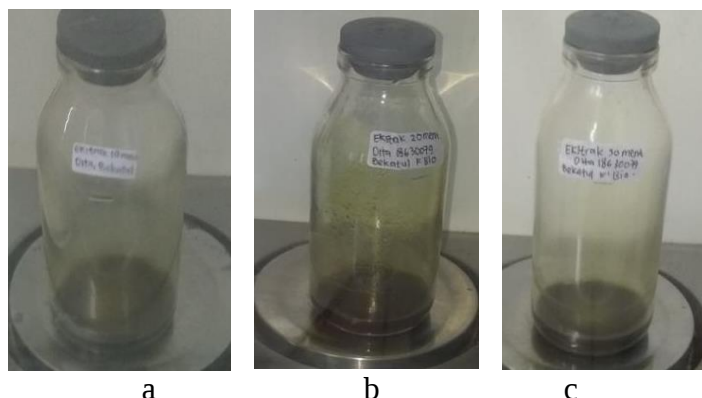
Ekstraksi ultrasonik dilakukan menggunakan pelarut n-heksana dengan variasi waktu (E1) 10 menit, (E2) 20 menit, dan (E3) 30 menit. Variasi waktu memungkinkan terjadinya ekstraksi senyawa metabolit sekunder yang terikat berbeda. Proses ekstraksi dilakukan dengan perbandingan serbuk:pelarut (1:5). Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dengan corong buchner vakum untuk memisahkan filtrat dan ampasnya. Selanjutnya filtrat dipekatkan dengan rotary

evaporator untuk menguapkan pelarutnya. Hasil rendemen ekstrak n-heksana bekatul beras hitam dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak n-heksana bekatul beras hitam

Variasi waktu (menit)	Warna Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
10	Hijau tua	2,7029	9,010
20	Hijau tua pekat	3,2256	10,752
30	Hijau tua pekat	3,3068	11,023

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa hasil rendemen tertinggi adalah ekstrak dengan variasi waktu 30 menit yaitu sebesar 11,023%. Sedangkan rendemen ekstraksi waktu 10 dan 20 menit masing-masing sebesar 9,010% dan 10,752%. Proses ekstraksi bekatul beras hitam dilakukan selama 10, 20, dan 30 menit menunjukkan rendemen ekstrak bekatul beras hitam meningkat seiring dengan naiknya waktu ekstraksi. Waktu ekstraksi sangat mempengaruhi rendemen. Lamanya waktu ekstraksi akan mempengaruhi rendemen yang diperoleh. Menurut Mas'ud (2017) Penambahan waktu ekstraksi mengakibatkan penambahan jumlah rendemen yang dihasilkan. Lamanya waktu akan mempermudah penetrasi pelarut ke dalam bahan, Semakin lama waktu kontak antara *solute* dengan *solvent* selama proses ekstraksi maka semakin banyak senyawa bioaktif yang terekstrak.



Gambar 4.2 Hasil ekstraksi variasi waktu (a) E1, (b) E2, (c) E3

4.4. Uji Toksisitas Bekatul Beras Hitam

4.4.1. Penetasan Larva Udang *Artemia salina* L.

Penetasan larva udang *Artemia salina* L. dilakukan dengan menambahkan ± 100 mg telur larva ke dalam aquarium kecil yang telah terisi air laut dan dilakukan aerasi menggunakan aerator selama 48 jam. Aerator berfungsi untuk memberikan oksigen agar larva udang *Artemia salina* L. tidak mati karena kekurangan oksigen. Penetasan larva udang dilakukan di bawah cahaya lampu. Larva udang *Artemia salina* L. yang siap digunakan berumur 48 jam karena pada tahap ini organ dari larva udang sudah terbentuk semua (Muaja, dkk., 2013).

4.4.2. Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan pada ekstrak n-heksana. Langkah awal dilakukan uji toksisitas yaitu pembuatan larutan stok pada masing-masing ekstrak yang memiliki tujuan untuk menghindari penimbangan atau penakaran berulang ulang setiap kali membuat larutan uji. Setelah itu dibuat larutan uji dengan beberapa konsentrasi yaitu 25, 50, 100, 250 dan 500, 1000 ppm dan kemudian diupkan

pelarutnya. Tujuan dari penguapan yaitu agar larva udang yang mati tidak disebabkan karena pelarut melainkan ekstraknya.

Selanjutnya ditambahkan DMSO, ragi roti dan air laut. Fungsi penambahan DMSO sebagai surfaktan yang dapat melarutkan ekstrak dalam air laut. DMSO terdiri dari ikatan S=O yang mempunyai sifat polar dan dua alkil CH₃ memiliki sifat non polar. Sedangkan gugus S=O akan berinteraksi dengan senyawa polar, dan gugus CH₃ akan berinteraksi dengan senyawa nonpolar (Khasanah, 2018). Ragi roti digunakan sebagai makanan larva udang, agar larva udang tidak mati karena kekurangan makanan. Kemudian divortex agar ekstrak, larutan ragi roti dan air laut dapat tercampur. Pengamatan larva udang *Artemia salina* L dilakukan setelah 24 jam dan kematian larva dilihat dari nilai yang sering muncul (modus). Kontrol yang digunakan adalah kontrol pelarut dan kontrol DMSO. Hasil uji toksisitas dari ekstrak n-heksana ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Hasil dari modus dan mortalitas masing-masing ekstrak dihitung menggunakan uji statistik minitab 19 untuk mengetahui nilai LC₅₀ pada masing-masing ekstrak bekatul beras hitam. Nilai LC₅₀ ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.2 Hasil uji toksisitas ekstrak *n*-heksana bekatul beras hitam

Konsentrasi (ppm)	Modus kematian larva			Mortalitas larva		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3
0	0	0	0	0	0	0
0*	0	0	0	0	0	0
25	1	2	2	5	10	10
50	2	3	3	10	15	15
100	3	4	4	15	20	20
250	4	5	5	20	25	25
500	6	7	7	30	35	35
1000	8	8	9	40	40	45

Keterangan: 0 = kontrol pelarut, 0* = kontrol DMSO

E1 = 10 menit, E2 = 20 menit , dan E3 = 30 menit

Tabel 4.3 Nilai LC_{50} ekstrak *n*-heksana bekatul beras hitam

Ekstrak Bekatul Beras Hitam	Nilai LC_{50} (ppm)
E1	462,105
E2	336,573
E3	295,907

Keterangan: E1 = 10 menit, E2 = 20 menit , dan E3 = 30 menit

Hasil nilai LC_{50} pada ekstrak E3 sebesar 295,907 ppm. Dari nilai LC_{50} yang diperoleh lebih toksik dibandingkan ekstrak E2 (336,573 ppm) dan E1 (462,105 ppm). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak *n*-heksana bekatul beras hitam yang dilakukan ekstraksi dengan waktu 30 menit lebih banyak terekstrak. Hal ini dikarenakan ekstrak bekatul dengan pelarut *n*-heksana dapat mengandung senyawa kimia yang bersifat toksik bagi larva udang. Semakin kecil nilai LC_{50} semakin tinggi toksisitasnya. Pada penelitian Jannah (2020) mengekstraksi bekatul dengan pelarut *n*-heksana dengan variasi waktu 20, 25, dan 30 menit menghasilkan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 592,901; 617,425 dan 695,198 ppm.

Hasil pengujian toksisitas dari ekstrak n-heksana bekatul beras hitam dari ekstraksi ultrasonik bersifat toksik karena $LC_{50} < 1000$ ppm. Menurut Carballo, dkk., (2002) menyatakan bahwa suatu ekstrak bahan alam berpotensi sebagai obat apabila memiliki LC_{50} uji toksisitas menggunakan metode BSLT bernilai kurang dari 1000 ppm. $LC_{50} > 200 - 1000$ ppm dapat digunakan sebagai pestisida dan senyawa dengan nilai LC_{50} 100 ppm – 500 ppm bersifat toksik sedang (Meyer, dkk., 1982). Dari nilai LC_{50} yang diperoleh ekstrak E1, E2 dan E3 dapat dimanfaatkan sebagai pestisida.

4.5. Uji Fitokimia

Hasil dari perlakuan yang terbaik pada uji toksisitas diidentifikasi dengan uji fitokimia. Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, alkaloid, dan triterpenoid (Lenny, 2006). Dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak bekatul beras hitam. Pengujian yang dilakukan meliputi senyawa alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, triterpenoid dan steroid. Hasil uji fitokimia ekstrak bekatul beras hitam dapat diamati pada Tabel 4.4

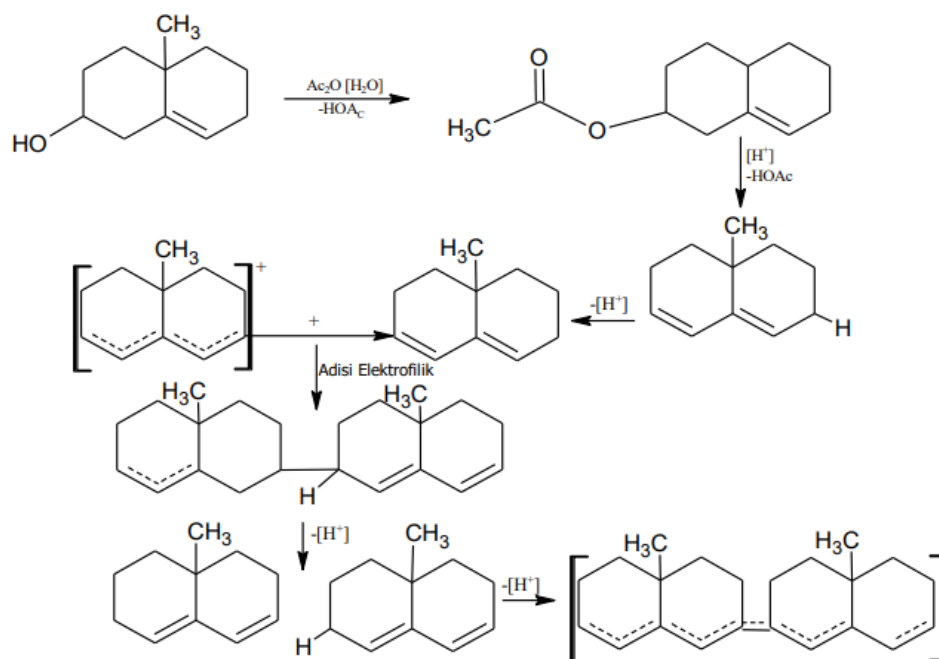
Tabel 4.4 Hasil uji fitokimia ekstrak bekatul beras hitam

Golongan Senyawa Aktif	E3
Alkaloid	
- Mayer	-
- Dragendorff	
Flavonoid	-
Steroid	+
Triterpenoid	+
Tanin	-
Saponin	-

Keterangan: + = terdapat senyawa

- = tidak terdapat senyawa

Hasil uji fitokimia pada ekstrak n-hekasana bekatul beras hitam mengandung senyawa triterpenoid dan steroid. Senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kekuningan, sedangkan senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau violet. Penambahan kloroform berfungsi untuk melarutkan senyawa steroid yang terkandung dalam sampel, sedangkan asam asetat anhidrat untuk membentuk gugus asetil (Alfiyaturrohman, 2013). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ulfa (2016) dan Jannah (2020) bahwa pengujian fitokimia ekstrak bekatul menghasilkan senyawa, steroid dan triterpenoid. Berikut dugaan reaksi yang terjadi pada senyawa steroid dan triterpenoid ditunjukkan pada Gambar 4.3.



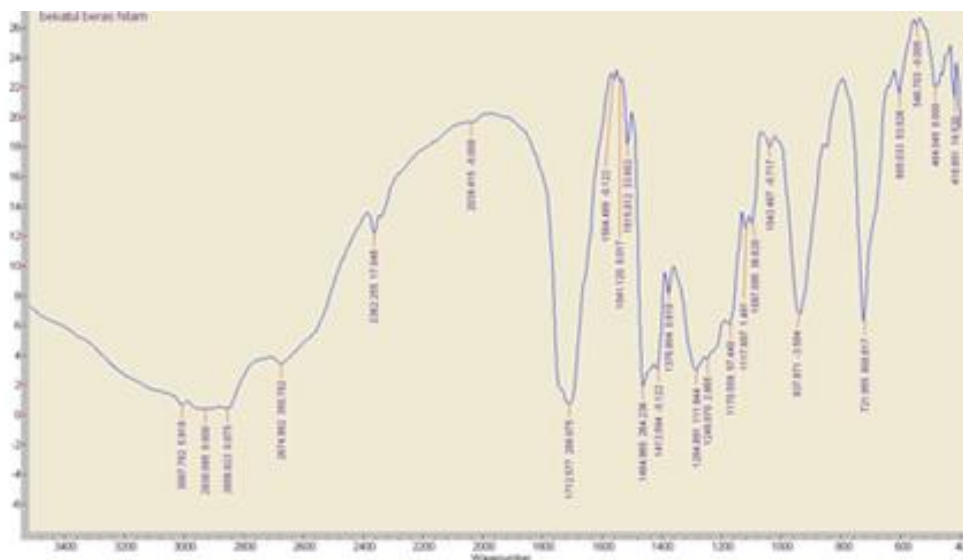
Gambar 4.3 Dugaan reaksi yang terjadi pada senyawa steroid dan triterpenoid (Nugrahani, dkk., 2016)

Mekanisme terjadinya reaksi pada steroid dan triterpenoid dimulai dari pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil merupakan gugus yang akan terlepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap yang menjadi penyebab terjadinya perubahan warna. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin kecoklatan untuk triterpenoid (Nugrahani, dkk., 2016). Reaksi triterpenoid dengan pereaksi *Liebermann* menghasilkan cincin kecoklatan sedangkan steroid memberikan warna hijau. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrid. Perbedaan

warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (Marliana & Saleh, 2011). Adapun perbedaan pada steroid dan triterpenoid secara struktural. Pada triterpenoid terdiri dari unit isoprena (C_5H_8) yang terusun dalam pola repetitif, sedangkan pada steroid terdiri dari 4 cincin karbon yang disusun dalam pola 1 siklopentana dan 3 sikloheksana (Heliawati, 2018)

4.6. Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Hasil dari perlakuan yang terbaik pada uji toksisitas diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung di dalam masing-masing ekstrak bekatul beras hitam. Identifikasi dengan spektrofotometer FTIR dilakukan dengan membuat pellet KBr yaitu dengan cara menggerus serbuk KBr. Setelah itu dibuat pellet dengan dimasukan serbuk KBr yang telah digerus dalam tablet holder. Kemudian ditambahkan sedikit ekstrak pada pellet KBr. Hasil dari spektra FTIR n-heksana ditunjukkan pada Gambar 4.4



Gambar 4.4 Hasil spektra FTIR Ekstrak Bekatul Beras Hitam

Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak bekatul beras hitam (E3) memiliki serapan melebar pada $3007,78 \text{ cm}^{-1}$ yang diduga adalah serapan ulur dari gugus OH dan diperkuat vibrasi tekuk alkohol primer pada bilangan gelombang $1043,487 \text{ cm}^{-1}$. Serapan pada $2930,095 \text{ cm}^{-1}$ dan $2856,82 \text{ cm}^{-1}$ diduga CH_3 dan CH_2 alifatik. Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi $1464,965 \text{ cm}^{-1}$ dan $1376,804 \text{ cm}^{-1}$. $1712,57 \text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan gugus C=O ulur. Bilangan gelombang $1464,96 \text{ cm}^{-1}$ merupakan gugus C=C stretch yang didukung dengan adanya $=\text{C-H}$ dengan bilangan gelombang $605,033 \text{ cm}^{-1}$. Gugus C=C aromatik ditunjukkan pada bilangan gelombang $1564,489 \text{ cm}^{-1}$ dan diperkuat dengan $\text{C-H } \text{sp}^2$ bending aromatik pada bilangan gelombang $721,955 \text{ cm}^{-1}$. Hasil dari spektra FTIR n-heksana dapat dilihat pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Interpretasi spektra FTIR ekstrak bekatul beras hitam

Bilangan Gelombang (cm^{-1})		
Ekstrak n-Heksana (E3)	Pustaka	Gugus Fungsi
3007,78	3500 – 3000 ^b	OH <i>stretching</i>
2930,095	3000 – 2800 ^a	-CH ₃ <i>Stretch asym</i>
2856,82	2870 – 2840 ^a	CH ₂ <i>Stretching sym acyclic</i>
1712,577	1850 – 1550 ^a	C=O <i>stretch</i>
-	1690 – 1620 ^a	C=C <i>stretch</i>
1564,489	1625 – 1430 ^a	C=C <i>aromatic bending</i>
1464,965	1480 – 1440 ^a	C-H pada CH ₃ (<i>bending</i>) <i>asym</i>
1376,804	1395 – 1365 ^a	C-H pada CH ₃ (<i>bending</i>) <i>sym</i>
1248,070	1260-1180 ^a	C-O <i>stretch</i>
1043,487	~1050 ^a	Primary alkohol, C-O <i>stretch</i>
-	900 – 650 ^a	C-H sp^2 <i>bending aromatik</i>
721,955	900 – 675 ^a	=C-H <i>bending</i>

Keterangan : a = Socrates, 1994, b = Lopez Velazquez, dkk., 2013

Hasil uji fitokimia pada bekatul beras hitam n-Heksana (E3) menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang mengandung senyawa steroid dan triterpenoid. Dugaan adanya senyawa steroid dan triterpenoid ditunjukkan dengan adanya serapan pada gugus -OH, C=O, C-H, C=C, C-O, dan Geminal Dimetil. Hal ini diperkuat dengan literatur, menurut Madjid, dkk., (2020) serapan khas senyawa steroid adanya -OH ($3007,78 \text{ cm}^{-1}$), CH ($2930,095 \text{ cm}^{-1}$), C=C ($1564,489 \text{ cm}^{-1}$), C-O ($1248,070 \text{ cm}^{-1}$), dan geminal dimetil pada bilangan gelombang ($1464,96 \text{ cm}^{-1}$ dan $1376,804 \text{ cm}^{-1}$). Sedangkan serapan senyawa triterpenoid yaitu adanya gugus OH pada bilangan gelombang ($3007,78 \text{ cm}^{-1}$), gugus C=O ($1712,577 \text{ cm}^{-1}$), CH ($2930,095 \text{ cm}^{-1}$), C=C ($1564,489 \text{ cm}^{-1}$) dan geminal dimetil pada bilangan gelombang ($1464,96 \text{ cm}^{-1}$ dan $1376,804 \text{ cm}^{-1}$).

steroid adanya -OH ($3007,78 \text{ cm}^{-1}$), CH_2 ($2930,095 \text{ cm}^{-1}$), C=C aromatik ($1564,489 \text{ cm}^{-1}$), C-O ($1248,070 \text{ cm}^{-1}$), dan $\text{-C(CH}_3)_2$ ($1376,804 \text{ cm}^{-1}$). Sedangkan serapan senyawa triterpenoid yaitu adanya gugus OH pada bilangan gelombang ($3007,78 \text{ cm}^{-1}$), geminal dimetil pada bilangan gelombang ($1464,96 \text{ cm}^{-1}$ dan $1376,804 \text{ cm}^{-1}$), gugus C=O ($1712,577 \text{ cm}^{-1}$), dan C=C aromatic ($1564,489 \text{ cm}^{-1}$).

4.7. Pembahasan Hasil Penelitian dalam Prespektif Islam

Sains merupakan ilmu pengetahuan, dalam arti khusus sains mempunyai peran penting dalam kehidupan seorang muslim, ia disejajarkan dengan ilmu-ilmu keislaman yang lain. Selain itu, sains memiliki posisi sebagai alat untuk memahami al-Qur'an karena dapat meningkatkan keimanan seseorang. Maka kita sebagai manusia hendaknya mempelajari sains dan melakukan penelitian karena dalam penelitian kita dapat mengetahui tanda-tanda kebesaran Allah Swt.

Al-Qur'an menekankan tentang arti pentingnya membuat penelitian secara cermat terhadap fenomena alam untuk mendapatkan dan mengembangkan suatu ide. Sedangkan manusia diperintahkan untuk memikirkan apa saja yang ada di langit dan bumi. Penciptaan langit dan bumi yang telah sempurna beserta segala macam isinya, tidaklah sia-sia. Allah menciptakan segala yang ada di bumi dengan beraneka ragam, baik jenisnya maupun manfaatnya. Allah Swt. berfirman dalam Q.S Asy Syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (Q.S Asy Syu'ara (26):7)

Menurut Quthb (2003) tumbuh-tumbuhan itu mulia dengan segala kehidupan yang ada di dalamnya yang bersumber dari Allah Yang Maha Mulia. Ungkapan ini mengisyaratkan kepada jiwa untuk menerima dan merespon ciptaan Allah dengan sikap yang memuliakan, memperhatikan, dan memperhitungkannya. Kandungan yang terdapat dalam ayat tersebut sesungguhnya berisi perintah kepada seluruh umat manusia untuk mengkaji berbagai macam ciptaan Allah khususnya tumbuhan secara lebih mendetail. Semakin dalam manusia mengkaji fenomena alam dan ciptaan Allah Swt. maka semakin terungkap pula keluasan, kompleksitas, keseimbangan, dan kesempurnaan-Nya (Rossidy, 2008).

Berdasarkan firman Allah Swt. tersebut, jelas bahwa Allah Swt. menciptakan bumi yang di dalamnya terdapat berbagai macam tumbuhan, yang mana tumbuhan tersebut dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai obat. Salah satu tumbuhan tersebut adalah bekatul beras hitam yang merupakan hasil samping pengolahan padi. Setiap makhluk mengandung unsur-unsur dan membentuk senyawa-senyawa yang sesuai dengan manfaatnya. Bekatul beras hitam memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder seperti steroid dan triterpenoid yang dapat digunakan dalam bidang farmatologi. Ekstrak n-heksana bekatul beras hitam dengan waktu ekstraksi 10, 20, dan 30 menit menunjukkan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 462,105 ppm; LC_{50} 336,573 ppm dan LC_{50} 295,907 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina*. Menurut Meyer dkk., (1982) senyawa dengan nilai LC_{50} 100 ppm – 500 ppm bersifat toksik sedang. Manusia harus dapat menguraikan fenomena dan masalah melalui pembuktian dari sudut pandang ilmiah maupun integrasinya

dengan Al-Qur'an. Pemanfaatan obat dari bekatul beras hitam sesuai firman Allah dalam Q.S Al-Furqan ayat 2:

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



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

Menurut Shihab (2002) dalam *Tafsir al-Mishbah*, Firman Allah tersebut menjelaskan bahwa segala sesuatu dalam alam ini baik di langit maupun di bumi adalah makhluk-Nya. Dialah Penciptanya tidak ada Pencipta selain Dia tidak ada sekutu bagi-Nya yang patut disembah. Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukuran sesuai dengan makhluk-Nya. Kesesuaian yang mendatangkan hikmah-Nya tanpa ada kekurangan. Pada ayat tersebut juga terdapat kata qadar berarti mengukur, memberi kadar. Dalam penelitian ini, senyawa ekstrak n-heksana bekatul beras hitam memiliki ukuran kemampuan sebagai toksisitas yang disebut dengan nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi suatu zat yang menyebabkan kematian larva uji (udang) sebesar 50%. Penelitian ini menghasilkan nilai LC_{50} yang berpotensi sebagai pestisida. Menurut Carballo, dkk., (2002) menyatakan bahwa suatu ekstrak bahan alam berpotensi sebagai obat apabila memiliki LC_{50} uji toksisitas menggunakan metode BSLT bernilai kurang dari 1000 ppm. Menurut Oratmangun, dkk., (2014) parameter nilai LC_{50} 200-1000 ppm berpotensi sebagai pestisida. Hal ini dinyatakan oleh Sudewi (2021) bahwa bekatul merupakan produk sampingan dari pengolahan hasil panen padi yang juga dapat dimanfaatkan sebagai herbisida nabati untuk penanganan gulma pada tanaman.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Hasil uji toksisitas bekatul beras hitam dengan variasi lama ekstraksi ultrasonik 10, 20, dan 30 menit masing-masing memiliki nilai LC_{50} 462,105 ppm; LC_{50} 336,573 ppm dan LC_{50} 295,907 ppm.
2. Hasil yang diperoleh pada uji fitokimia pada ekstrak bekatul beras hitam yang terbaik mengandung steroid dan triterpenoid. Hasil juga diperkuat dengan FTIR menunjukkan adanya gugus OH, C=O, C-H, C=C, C-O, dan geminal dimetil.

5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut disarankan menggunakan lup untuk menghitung larva yang kecil agar terlihat lebih jelas dan identifikasi lebih lanjut pada ekstrak bekatul beras hitam metode ultrasonik dapat menggunakan GC-MS, H-NMR bertujuan untuk mengetahui senyawa lebih jelas. Kemudian dilakukan uji aktivitas lain seperti antioksidan dan antibakteri sehingga dapat menambah informasi tentang manfaat lainnya dari bekatul beras hitam.

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.
- Adhiksana, Arief. 2017. Perbandingan Metode Konvensional Ekstraksi Pektin Dari Kulit Buah Pisang Dengan Metode Ultrasonik. *Journal of Research and Technology*, 3 (2) Desember 2017
- Adom K, Liu R. 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21):6182-6187.
- Alfarabi, M., & Widyadhari, G. (2018). Uji Toksisitas Dan Identifikasi Fitokimia Ekstrak Buah Dan Batang Rimbang (*Solanum torvum* Swartz). *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 11(2), 109–115.
- Alfiyaturommah. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Kloroform Dan N-Heksana Alga Coklat *Sargassum Vulgare* Asal Pantai Kapong Pamekasan Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. *ALCHEMY*, Vol. 2 No. 2 Maret 2013, hal 101 - 149
- Angelina, Jesica. 2021. Pengaruh Variasi Ukuran Serbuk Daun Dan Suhu Terhadap Ekstraksi Fruktooligosakarida Dari Daun Yakon Sebagai Alternatif Pemanis Alami. Skripsi. Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang.
- Ardiansyah. 2020. Inovasi Teknologi Pertanian Untuk Menunjang Agroindustri di Masa Pandemi. Swasta Nulus: Bali. Buku Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana
- Ardji, dkk., 2018. Karakterisasi Senyawa Steroid Dari Fraksi Diklorometana Batang Tanaman Andong (*Cordyline Fruticosa*) Dan Aktivitas Sitotoksiknya Terhadap Sel HeLa. *JKK*, Tahun 2018, Vol 7(1), halaman 48-52
- Arimpi, A., & Pandia, S. (2019). Pembuatan Pektin Dari Limbah Kulit Jeruk (*Citrus Sinensis*) Dengan Metode Ekstraksi Gelombang Ultrasonik Menggunakan Pelarut Asam Sulfat (H_2SO_4) Pectin Production From Orange Peel (*Citrus Sinensis*) With Ultrasonic Waves Extraction Method Using Sulfuric Aci. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 8(1), 18.
- Ates, M., Demir, V., Arslan, Z., Camas, M., dan Celik, F. 2016. Toxicity of Engineered Nickel Oxide and Cobalt Oxide Nanoparticles to *Artemia salina* In Seawater. *Water, Air, & Soil Pollution*. 227(3), 70.
- Azizah, Mutiara. 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.

Skripsi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Purwokerto .

BPOM. 2022. Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara In Vivo. Nomor 10 Tahun 2022

Carballo, J.L., Indra,Z.L.H, Perez, P, dan Gravalos,M.D.G. (2002). A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays to Detect In Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnology* 2 (17): 1-5

Cassaret, D. 1975. *Toxicology The Basic Science of Poison*. New York: Macmilan Publishing CO Inc.

Cavoski, I., Caboni, P., & Miano, T. (2011). Natural Pesticides and Future Perspectives. *Pesticides in the Modern World - Pesticides Use and Management*.

Chanphrom P. 2007. Antioxidants and Antioxidant Activities of Pigmented Rice Varieties and Rice Bran.[Thesis]. Thailand: Faculty of Graduated Studies, Mahidol University.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560.

Choi. Y.S., Choi, J.H., Han, D.J., Kim, H.Y., Lee, M.A., Kim, H.W., Lee, J.W., Chung, H.J., Kim, C.J. (2010). Optimization of replacing pork back fat with grape seed oil and rice bran fiber for reduced-fat meat emulsion systems. *Meat Science* 84(1), 212-218

Coates, J. 2000 Interpretation of Infrared Spectra A Practical Approach . In *Encyclopedia of Analytical Chemistry* . In R.A. Meyers (Ed .) . pp . 10815 10837 , UK : John Wiley & Sons Ltd , Chichester

Coky N W C, Diarini A S, Adiluhur M A, Oka M, Dewantari A A I S H, Laksmaniani N P L, Leliqia N P E, Paramita N L P V, and Wirasuta I M A G 2014 Uji aktivitas mengkelat logam dari ekstrak etanol bekatul beras hitam dengan metode ferrous ion chelating (fic) 3:26-30

Dachriyanus., 2004, Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri, hal 1-37, Andalas University Press, Padang.

Dermawan, R. 2012. Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder. Makalah Kimia Organik Analisis. Makassar: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin

Diyah, W. T., & Simon, W. B. (2015). Pengaruh Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenid Labu Kuning Dengan Metode Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2), 390–401

- Djaeni dan Lisytadevi. 2019. The Ultrasound-Assisted Extraction of Rice Bran Oil with n-Hexane as a Solvent. *Journal of Physics: Conference Series* 1295 (2019) 012027
- Endarini, L. H. 2016. Farmakologi dan Fitokimia. Jakarta: Kementrian dan Kesehatan Republik Indonesia.
- Estiasih, dkk., 2021. Senyawa bioaktif dan potensi bekatul beras (*Oryza sativa*) sebagai bahan pangan fungsional. *Jurnal Teknologi Pangan* Volume 12, No. 1, (2021), Halaman 30-43. : Malang : Universitas Brawijaya.
- Fariestha, G. A. K., Andayani, S., & Yanuhar, U. (2018). Analysis of The Secondary Metabolite of Kersen Leaf Extracts (*Muntingia calabura L.*) and Its Potential as Anti-Bacteria to Inhibit *Aeromonas hydrophila*. *Research Journal of Life Science*, 5(2), 121–127.
- Fatkurahman, R., Atmaka, W., Basito. 2012. Karakteristik Sensoris Dan Sifat Fisikokimia Cookies Dengan Substitusi Bekatul Beras Hitam (*Oryza Sativa L.*) Dan Tepung Jagung (*Zea Mays L.*). *Jurnal Teknosains Pangan* Vol 1 No 1 Oktober 2012
- Gajardo, G.M., dan Beardmore, J.A. 2012. The Brine Shrimp *Artemia*: Adapted to Critical Life Conditions. *Frontiers In Physiology*. 3(185): 1-8.
- Ghasemzadeh, A., Karbalaii, M.T., Jaafar, H.Z.E., Rahmat, A. (2018). Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative
- Hakim R.J., Nugrhani R.A., dan Fitriyah. 2020. Performance of Lecithin Isolate from Vegetable Oil as an Emulsifier on the Beeswax Coating Characteristics. *International Journal of ChemTech Research*, 2020,13(3): 111-119
- Hammado, N., & Illing, I. (2013). Identifikasi senyawa bahan aktif alkaloid pada tanaman lahuna (*eupatorium odoratum*). *Jurnal Dinamika*, 04(2), 1–18.
- Handayani, H., Sriherfyna, F., dan Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonik Bath (Kajian Rasi Bahan: Pelarut dan lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.4 No.1, 262-272.
- Handayani, S., Wirasutisna, K. R., & Insanu, M. (2017). Penapisan Fitokimia Dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar. 5(3), 10.
- Harborne, J. . (1987). *Metode Fitokimia* (kedua). ITB.
- Hasanah N., Yulianti I. 2018. Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus Limon (L.) Osbeck*) Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina Leach*). *Edu Masda Journal* Vol. 2 / No. 2 / September 2018
- Heliawati, 2018. Kimia Organik Bahan Alam. *Pascasarjana – UNPAK*. Bogor, Jawa Barat.

- Hendri, Muhammad., Diansyah Gusti., Tampubolon, Jetun., 2010. Konsentrasi Letal (LC_{50} -48 jam) Logam Tembaga (Cu) dan Logam Kadmium (Cd) Terhadap Tingkat Mortalitas Juwana Kuda Laut (*Hippocampus spp*). Jurnal Penelitian Sains volume 13 nomer 1(D)
- 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
- Hidjrawan, Y., 2018, Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*), *Jurnal Optimalisasi*, Vol. 4, No. 2, hal 78-82
- Holland, M. 2016. Black Rice. <http://travelingchili.com/articles/black-rice>. Diakses pada 6 September 2016
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Illing, I., Safitri, W. dan Erfiana .2017. Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan. *Jurnal Dinamika*, 8(1), hal. 66–84.
- Ismoyo, dkk., 2019. Pengaruh Waktu Sentrifugasi Terhadap Kadar Oryzanol Hasil EkstraksiRice Bran Dengan Metode Ultrasonic Bath. p - ISSN : 2407 – 1846 jurnal.umj.ac.id/index.php/semnastek
- Jannah, dkk., 2020. Identifikasi dan Uji Toksisitas Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina L.*) Ekstrak Bekatul Menggunakan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi. *Alchemy:Journal Of Chemistry*, 8: 2 (2020)
- Jannah, Umi Aniatul. 2021. Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrim Lethality Test (BSLT) Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Pelarut Etanol, Etil Asetat, dan N-Heksana Hasil Ekstraksi Sonikasi. Skripsi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Julianto, S. T. 2019. Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. Yogyakarta: UII Press.
- Kalpanadevi, C, Singh, V., Subramanian, R. (2018). Influence of milling on the nutritional composition of bran from different rice varieties. *Journal of Food Science and Technology* 55(6),2259– 2269.
- Kharisma dan Safitri. 2020. Formulasi Dan Uji Mutu Fisik Sediaan Gel Ekstrak Bekatul (*Oryza Sativa L.*). Artikel Pemakalah Paralel. p-ISSN: 2527-533X
- Khasanah, N. F. (2018). Uji Toksisitas Senyawa Aktif Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan n-Butanol *Hydrilla verticillata* Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol dari Perairan Danau Ranu Pasuruan. SKRIPSI. [Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang].

- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. 2008. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press
- Kuldiloke, J. (2002). Effect Of Ultrasound Temperature And Pressure Treatments On Enzyme Activity and Quality Of Fruit and Vegetable Juices. Dissertationder Technischen Universitat Berlin. Berlin
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpraponoida, dan Alkaloida. Karya Ilmiah. Medan: USU.
- Lestiani, Lanny.2008. Vitamin Larut Air. Universitas Indonesia
- Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., & Kardono, L. B. . (2006). Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari Berbagai Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa (*Phalaria macrocarpa*). Buletin Penelitian Kesehatan, 32(3), 111–118.
- Liu, Q., M. (2010). Optimazation Of Ultrasonik-assited Extraction Of Chlorogenic Acid From Folium Eucommieae and Solution of Its Antioxodant Activity. Journal of medical Plants Research vol 4(23),pp. 2503-2511
- Marliana, S.D., Saleh, C. 2011. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil asetat, dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari Siceraria* (Morliana). J. Kimia Mulawarman, 8(2): 39-63
- Martiningsih, Ni Wayan., 2013. Skrining Awal Ekstrak Etil Asetat Spons *Leucetta* Sp. Sebagai Antikanker Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA III 2013.
- Mas'ud, Fajriyati.(2017). Studi Pendahuluan Ekstraksi Bertingkat Minyak Biji Mangga Arumanis (*Mangifera Indica*) Menggunakan Pelarut N-Heksan dan Etanol
- Mason TJ. 1990. Sonochemistry: The Use of Ultrasonic in Chemistry. Volume ke-1. Cambridge (UK): Royal Society of Chemistry
- Mawwadah. (2019). Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata*. SKRIPSI, Malang (UIN Maulana Malik Ibrahim Malang), 1–9.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(1), 31–34.
- Moelyono, M. . (1996). Panduan Praktikum Analisis Fitokimia. Laboratorium Farmakologi Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Padjadjaran. Bandung
- 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

- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA*, 2(2), 115.
- Mumpuni dan Ayustaningwarno. 2013. Analisis Kadar Tokoferol, Oryzanol Dan B-Karoten Serta Aktivitas Antioksidan Minyak Bekatul Kasar. *Journal of Nutrition College, Volume 2, Nomor 3, Tahun 2013*
- Nagendra, P.M.N., Sanjay, K.R., Shravya, K.M., Vismaya, M.N., Nanjunda, S.S. (2011). Health benefits of rice bran - A review. *Journal of Nutrition and Food Science* 1(3).
- Nam S.H, Choi S.P, Kang M.Y, Koh H.J, Kozuke N, Friedman M. 2006. Antioxidative Activities of Bran Extracts from Twenty One Pigmented Rice Cultivars. *Food Chemistry*. Vol. 94 : 613–620.
- Norhaizan, Ng S. K., Norashareena, & Abdah. 2011. Antioxidant and Cytotoxicity Effect of Rice Bran Phytic Acid as an Anticancer Agent on Ovarian, Breast and Liver Cancer Cell Lines. *Mal J Nutr* 17(3): 367 – 375
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris* L) Dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1).
- Nurlaili. dkk., 2016. Potensi Bekatul Beras Hitam Sebagai Sumber Zat Besi Dan Antosianin Terhadap Profil Zat Besi, Regenerasi Hemoglobin, Profil Lipid Dan Kapasitas Antioksidan Pada Tikus Anemia Strain Wistar. Skripsi. Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/> Universitas Gadjah Mada.
- Nursalim, Yusuf dan Dra. Zalni Yetti Razali .2007. Bekatul Makanan Yang Menyehatkan. Jakarta. Agro Media Pustaka.
- Nurzaman, F., Djajadisastra, J., & Elya, B. (2018). Identifikasi Kandungan Saponin dalam Ekstrak Kamboja Merah (*Plumeria rubra* L.) dan Daya Surfaktan dalam Sediaan Kosmetik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 85–93.
- Oratmangun, S. A. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) Terhadap *Artemia salina* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Anti Kanker. *PHARMACON*. 3(3).
- Paiva, F.F., Vanier, N.L., Berrios, J.D.J., Pinto, V.Z., Wood, D., Williams, T., Pan, J., Elias, M.C. (2016). Polishing and parboiling effect on the nutritional and technological properties of pigmented rice. *Food Chemistry* 191, 105–112.
- Panji, T. 2012. Teknik Spektroskopi. Yogyakarta: Graha Ilmu.

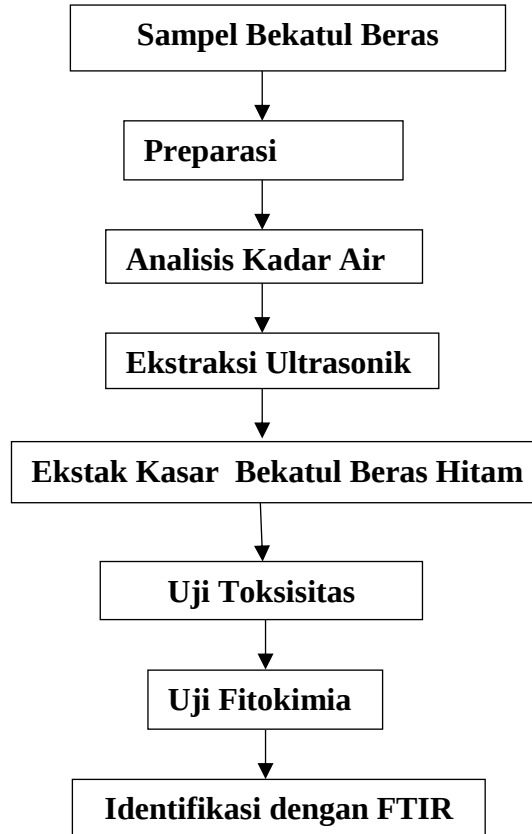
- Pourali, O., Asghari, F. S., & Yoshida, H. (2010). Production of phenolic compounds from rice bran biomass under subcritical water conditions. *Chemical Engineering Journal*, 160(1), 259–266.
- Prashant. 2011. Pytochemical Screening and Extract. *Internationale Pharmaceutica Science*, 1 (1) : 1-9
- Qureshi, A.A., Sami, S.A., Khan, F.A.. 2002. Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Types I and II. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13(3), 175-187.
- Quthb, Sayyid. 2003. Tafsir Fi Zhilalil Qur'an jilid VIII di Bawah Naungan Al-Qur'an, Jakarta: Gema Insani Pres
- Quthb, Sayyid. 2004. Tafsir Fi Zhilalil Qur'an jilid X di Bawah Naungan Al-Qur'an, Jakarta: Gema Insani Pres
- Rahmah, F. T. (2018). Uji Toksisitas Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Hasil Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi. In *SKRIPSI*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Rossidy, I. 2008. Fenomena Flora dan Fauna dalam Perspektif Al-Quran. Malang: UIN Malang Press
- Sa'adah, I.R., Suprianta, Subejo. 2013. Keragaman Warna Gabah dan warna Beras Varietas Lokal Padi Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.) yang Dibudidayakan Oleh Petani Kabupaten Sleman, bantul Dan Magelang. *Jurnal Vegetalika* Vol.2, No.3.
- Sankari, G., E. Kriahnamoorthy, S. Jayakumaran, S. Gunasekaran, V.V. Priya, S. Subramaniam, S. Subramaniam, and S.K. Mohan. 2010. Analysis of serum immunoglobulins using fourier transform infrared spectral measurements. *Biol. Med.* 2(3):42-48.
- Shao, Y., Xu, F., Sun, X., Bao, J., Beta, T. (2014). Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science* 59(2), 211–218.
- Sharif, M.K., Butt, M.S., Anjum, F.M., Nawaz, H. (2009). Preparation of fiber and mineral enriched defatted rice bran supplemented cookies. *Pakistan Journal of Nutrition* 8(5), 571-577.
- Shihab, M. Q. 2002. Tafsir Al Misbah : Pesan, kesan dan keserasian Al Quran. Jakarta : Lentera Hati.

- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. Jurnal MIPA. Vol.35, No.2.
- Silverstein, Bassler and Morrill, 1981 , Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik , Terjemahan A.J. Hartono dan A. V. Purba , Erlangga , Jakarta.
- Sirait, Midian. (2007). Penuntun Fitokimia dalam Farmasi. Bandung: Penerbit ITB
- Siswanti, Nurhartadi, E., Anandto, R.B.K., dan Setyaningrum, E.A. 2018. Karakterisasi Sifat Fisik Dan Kimia Bekatul Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.) Kultivar Melik Dengan Berbagai Teknik Stabilisasi. Seminar Nasional Dalam Rangka Dies Natalis UNS Ke-42. Vol.2. No.1
- Socrates. (1994). Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts Second Edition. John Wiley and Sons Inc.
- Sompong R, E. S. Siebenhandl, G. Linsberger, and E. Berghofer. 2011. Physicochemical and Antioxidative Properties of Red And Black Rice Varieties From Thailand, China And Sri Lanka. J Food Chem12(4):132-140.
- Sudarwati, S. 2020. Prospek Pengembangan Beras Hitam di Kabupaten Brebes, Jawa Tengah. Prosiding Seminar Nasional Kesiapan Sumber Daya Pertanian dan Inovasi Spesifik Lokasi Memasuki Era Industri 4.0. 508-512.
- Sudewi, Sri. 2021. Manfaat Bekatul Dalam Mengendalikan Gulma Pada Tanaman Padi. Pena Persada: Purwokerto, Jawa Tengah.
- Sun, X., Z. Jin, L. Yang, J. Hao, Y. Zu, W. Wang, dan W. Liu. (2013). Ultrasonic-Assisted Extraction of Procyanidins Using Ionic Liquid from *Larix gmelinii* Bark. Journal of Chemistry; 2013 : 1-9.
- Tjitrosoepomo, G. 2005. Morfologi Tumbuhan. Gajah Mada. University Press. Yogyakarta.
- Tomahayu, R.T. 2014. Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Ten.Steenis) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Thesis. Universitas Negeri Gorontalo.
- Torres, N. M., Talavera, T. A., & Andrews, H. E. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3).
- Trusheva, B., Trunkova, D., & Bankova, V. (2007). Different Extraction Methods Of Biologically Active Components From Propolis : A Preliminary Study. *Chemistry Central Journal*, 4, 1–4.
- Ulfa, S.T. 2016. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dan Bekatul dengan Menggunakan Variasi Pelarut. Skripsi. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim.

- Unknown. 2018. Bekatul Beras Hitam. Diakses pada 15 Oktober 2018. <http://bekaulhitam.blogspot.com/2018/10/manfaat-bekatul-beras-hitam.html>
- Vanhaecke, P., Persoone, G., Claus, C., dan Sorgeloos, P. 1981. Proposal for a Short Term Toxicity Test with *Artemia Nauplii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 5: 382-387.
- Wahyuni, dkk., 2020. Pengaruh Bekatul Beras Hitam terhadap Profil Farmakokinetika Glibenklamid Pada Tikus Hiperglikemik. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 17 No. 02. ISSN: 1693-8615 EISSN : 2302-4291
- Wardiyati, S. (2004). Pemanfaatan Ultrasonik Dalam Bidang Kimia. Prosiding Pertemuan Ilmiah Ilmu Pengetahuan Dan Teknologi Bahan, 419–425. Retrieved From <Http://Digilib.Batan.Go.Id/Ppin/Katalog/File/1411-2213-2004-1-419.Pdf>
- Wati, A., S. Anggraeni. 2015. Ekstraksi Minyak dari Mikroalga Jenis *Chlorella* sp Berbantuan Ultrasonik. Jurusan Teknik Kimia. Universitas Diponegoro.
- Widjanarko, S. B., Sutrisno, A., & Faridah, A. (2011). Effect Of Hydrogen Peroxide On Physicochemical Properties Of Common Konjac (*Amorphophallus Oncophyllus*) Flour By Maceration And Ultrasonic Methods Effect Of Hydrogen Peroxide On Physicochemical Properties Of Common Konjac (*Amorphophallus Oncophyllus*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 12(3), 143–152. <Https://Jtp.Ub.Ac.Id/Index.Php/Jtp/Article/View/346>
- Yawadio R, S. Tanimori, N. Morita. 2007. Identification of Phenolic Compounds Isolated from Pigmented Rices and Their Aldose Reductase Inhibitory Activities. *J Food Chem* 10(1):1616-1625.
- Yuliasari, dkk. 2021. Minyak Goreng Dedak Padi dengan Metode Batchwise Solvent Extraction. *Journal of Fundamentals and Applications of Chemical Engineering*, Vol. 02, No. 01, 2021
- Zou, T. Bin, Xia, E. Q., He, T. P., Huang, M. Y., Jia, Q., & Li, H. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of mangiferin from mango (*Mangifera indica* L.) leaves using response surface methodology. *Molecules*, 19(2), 1411–1421.

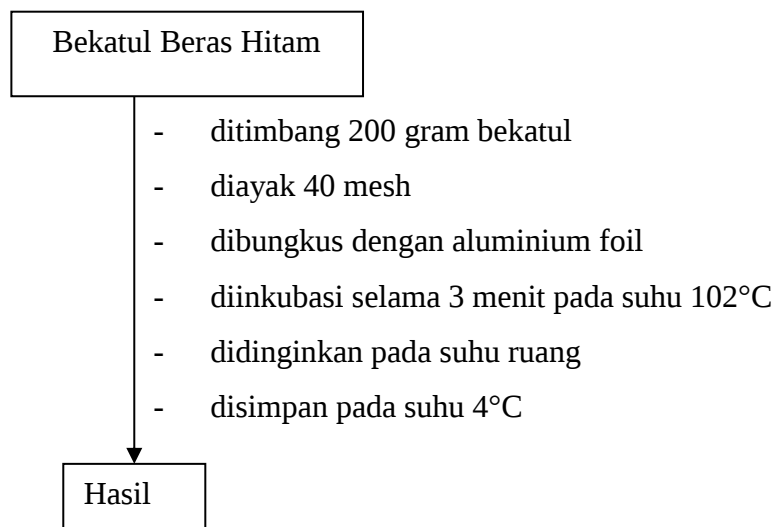
LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian



Lampiran 2 Skema Kerja

L. 2.1 Preparasi Sampel



L. 2.2 Analisis Kadar Air

Sampel

- Dipanaskan cawan porselen ke dalam oven pada suhu 105 °C selama ±15 menit
- disimpan cawan porselen ke dalam desikator selama 10 menit
- dibiarkan dingin dan ditimbang
- dipanaskan kembali cawan porselen dalam oven
- disimpan dalam desikator selama 10 menit
- ditimbang sampai berat cawan porselen konstan
- ditimbang 5 g bekatul beras hitam
- dimasukkan dalam cawan porselen
- dipanaskan ke dalam oven pada suhu 105 °C selama kurang lebih ±15 menit
- disimpan dalam desikator selama 10 menit
- ditimbang dan diulangi perlakuan hingga didapatkan berat yang konstan
- dihitung kadar air sampel bekatul beras hitam menggunakan persamaan

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

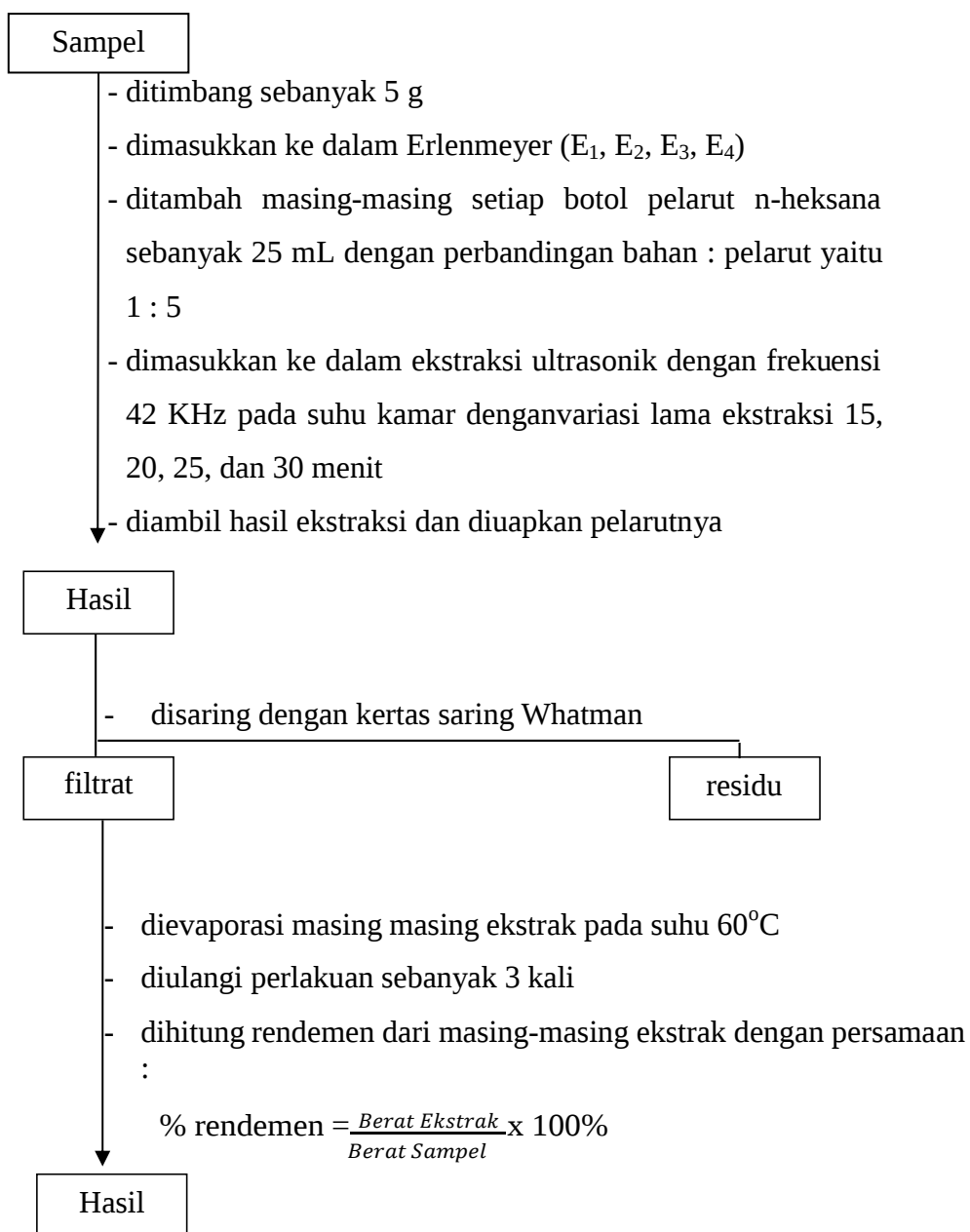
Keterangan: a = berat cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat cawan + sampel setelah dikeringkan.

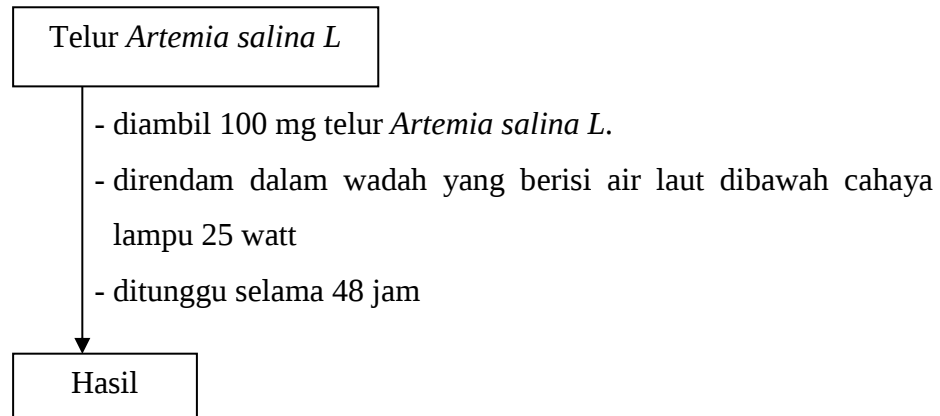
Hasil

L.2.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Hitam

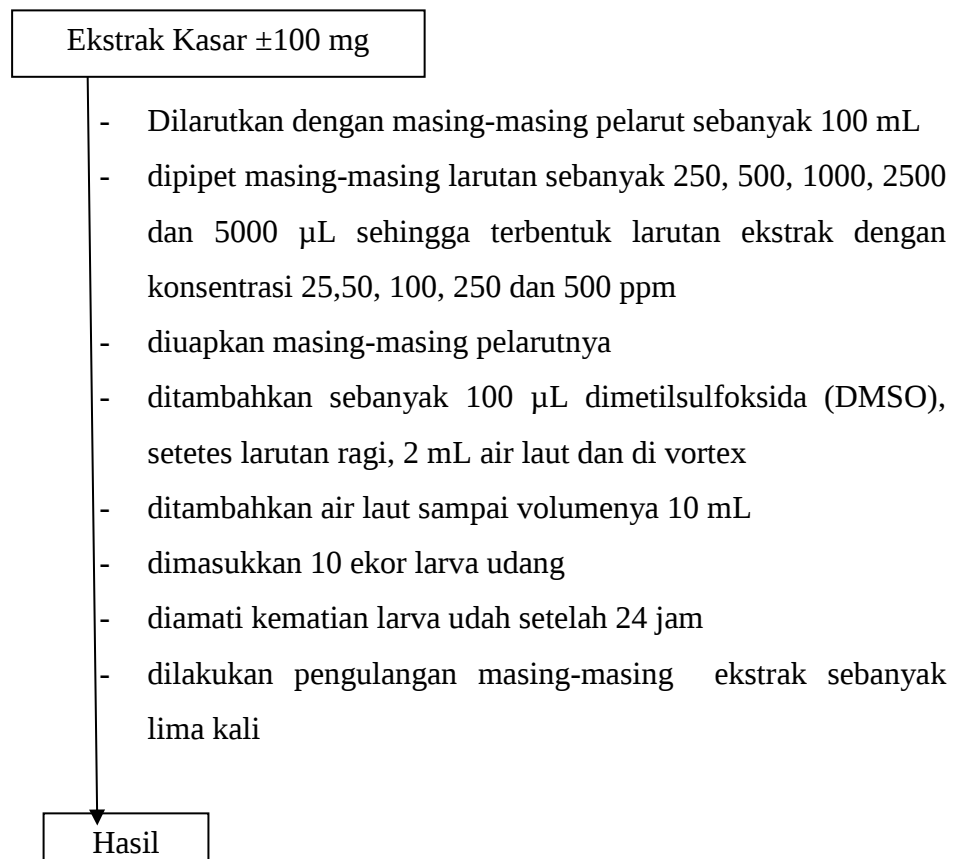


L. 2. 4 Uji Toksisitas dengan Larva Udang

2.4.1 Preparasi Larva *Artemia salina* L

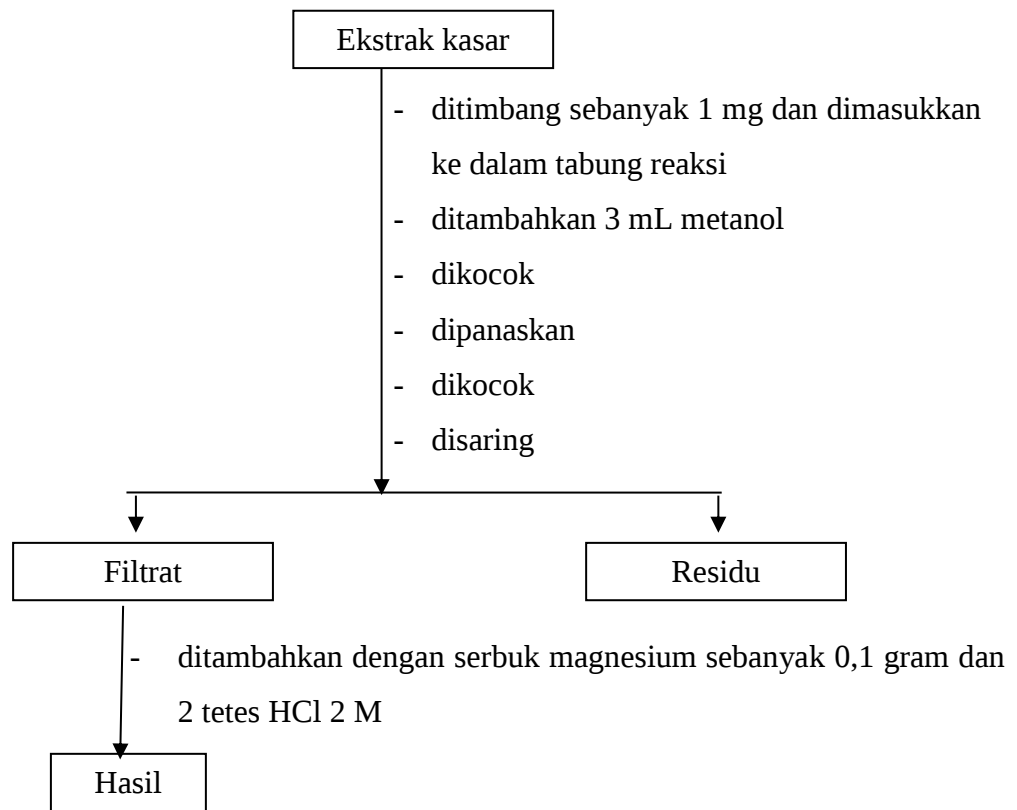


2.4.2 Uji Toksisitas

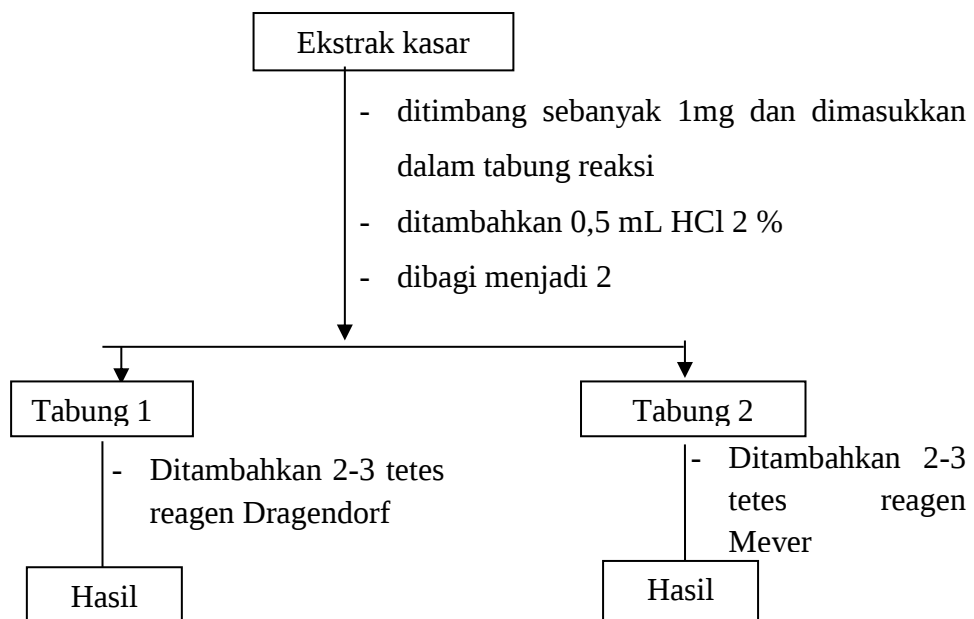


L 2.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

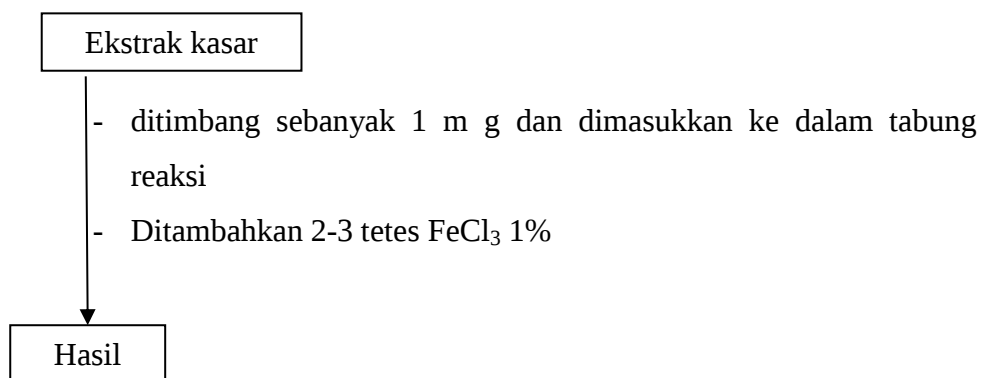
2.5.1 Uji Flavanoid



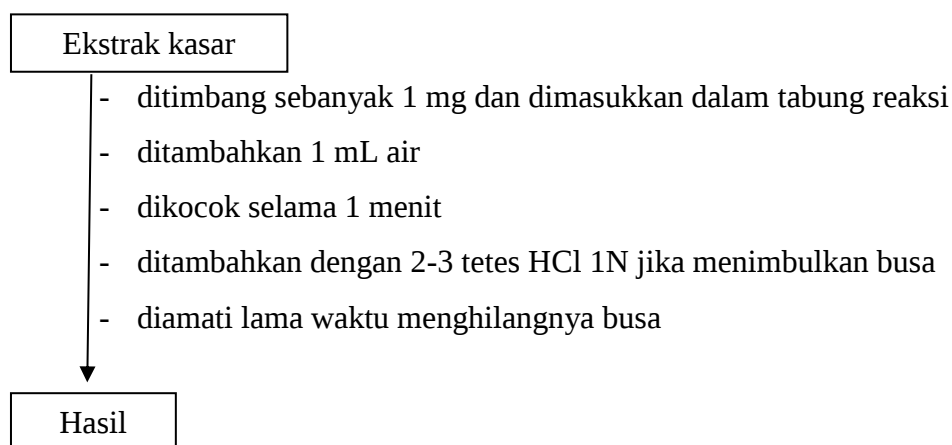
2.5.2 Alkaloid



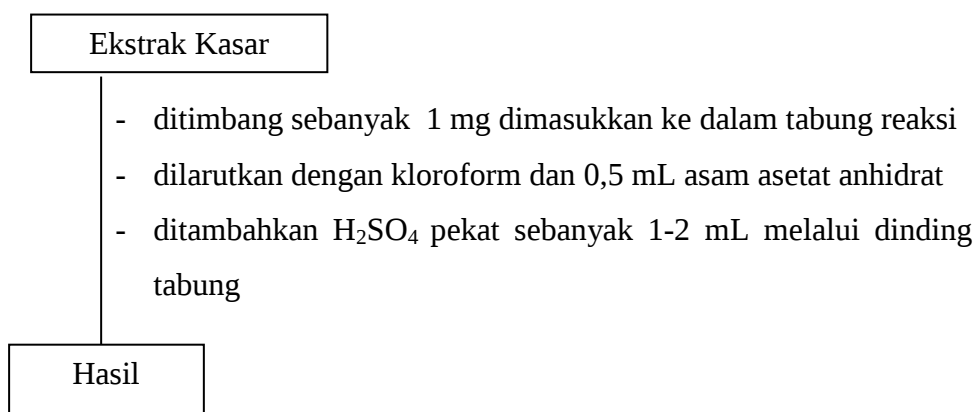
2.5.3 Tannin



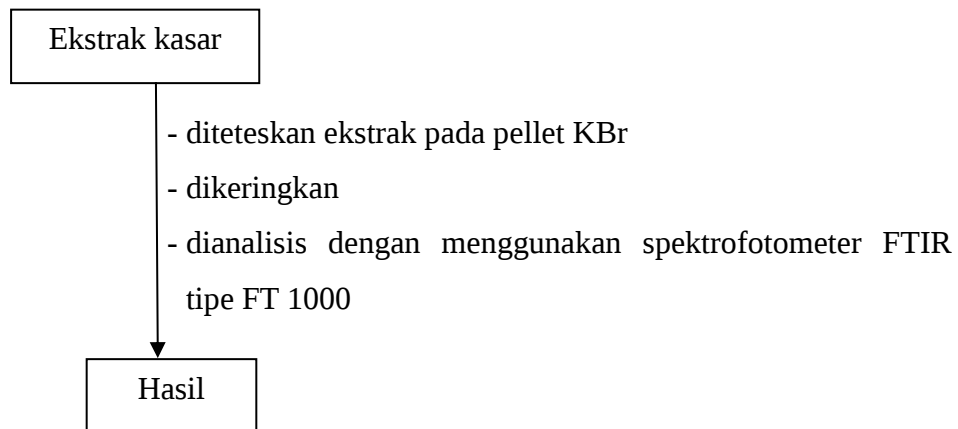
2.5.4 Saponin



2.5.5 Triterpenoid dan Steroid



**L. 2.6 Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Hitam
dengan Spektrofotometer FTIR**



Lampiran 3 Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan

L.3.1 Pembuatan Reagen Dragendorff

larutan 1 : sebanyak 8 g KI dilarutkan 20 mL aquades.

larutan 2 : 0,6 gr $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades

Larutan I reagen Dragendorff dapat dibuat dengan melarutkan 0,6 gr $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 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).

L.3.2 Pembuatan Reagen Meyer

Prosedur pembuatannya dengan ditimbang HgCl_2 1,358 gram kemudian ditambahkan aquades sebanyak 60 mL dan dimasukkan ke dalam gelas beker (I). Selanjutnya ditimbang 5 gram KI kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam gelas beker (II). Selanjutnya larutan I dimasukkan dalam larutan II dan diencerkan menggunakan labu ukur hingga volumenya tepat 100 mL menggunakan aquades (Manan,2006).

L.3.3 Pembuatan Larutan HCl 2%

$$\begin{aligned} \text{mL} \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 37\% \times V_1 &= 2\% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,54 \text{ mL} \\ &\sim 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 0,5 mL menggunakan pipet ukur 1 mL dan pengambilannya dilakukan dalam lemari asam, kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

L.3.4 Pembuatan Larutan HCl 1N

- Bj HCl pekat = 1,19 g/mL = 1190 g/L
- Konsentrasi HCl (b/b) = 37%
- BM HCl = 36,42 g/mol
- n = 1 (jumlah mol H^+)

$$\begin{aligned}
 \text{- Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\
 &= 1 \times \frac{37\% \times B_j \text{ HCl}}{BM \text{ HCl pekat}} \\
 &= \frac{37\% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N} \sim 12,1 \text{ mol/L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 12,1 \text{ M} \times V_1 &= 1 \text{ M} \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 8,26 \text{ mL} \sim 8,3 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Pembuatan larutannya adalah dipipet 8,3 mL HCl pekat 37% dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi 50 mL aquades dan ditandabatkan serta dihomogenkan.

L.3.6 Pembuatan Larutan HCl 2 M

$$\begin{aligned}
 M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 12,1 \text{ M} \times V_1 &= 2 \text{ M} \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 16,53 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet HCl pekat 37 % sebanyak 16,53 mL menggunakan pipet ukur 100 mL, kemudian larutan di masukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi 50 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan

L.3.7 Pembuatan Larutan Metanol 50%

Pembuatan Metanol 50%

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

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.

L.3.8 Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

$$\text{FeCl}_3 \text{ 1\%} = \frac{g \text{ terlarut}}{g \text{ terlarut} + g \text{ pelarut}} \times 100 \%$$

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

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

$$g \text{ pelarut} = 100 g - 1 g = 99 g$$

$$\text{volume pelarut} = \frac{g \text{ pelarut}}{BJ \text{ pelarut}} = \frac{99 g}{1 g/ml} = 99 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk FeCl₃.6H₂O sebanyak 1 gram menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL. Kemudian ditambahkan aquades sebanyak ± 50 mL untuk melarutkan serbuk tersebut dengan bantuan pengadukan. Selanjutnya larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen

L.3.8 Pembuatan Larutan Stok 10000 ppm Ekstrak Bekatul Beras Hitam

$$\text{Ppm} = \frac{mg}{L}$$

$$\begin{aligned} mg &= \text{ppm} \times L \\ &= 10.000 \text{ mg/L} \times 0,01L \\ &= 100 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, pembuatan larutan stok 10.000 ppm dilakukan dengan melarutkan sebanyak 100 mg sampel ekstrak kasar ke dalam 10 mL pelarut n-heksana

L.3.8.1 Pembuatan Larutan Ekstrak 25 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 25 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{250 \text{ mL.ppm}}{10000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 0,025 \text{ mL} = 25 \mu\text{L}$$

Jadi, pembuatan larutan ekstrak 25 ppm dilakukan dengan melarutkan sebanyak 25 μL dalam 10 mL air laut.

L.3.8.2 Pembuatan Larutan Ekstrak 50 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 10000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 50 \text{ ppm} \\
 V_1 &= \frac{500 \text{ mL.ppm}}{10000 \text{ ppm}} \\
 V_1 &= 0,05 \text{ mL} = 50 \text{ }\mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Jadi, pembuatan larutan ekstrak 50 ppm dilakukan dengan melarutkan sebanyak 50 μL dalam 10 mL air laut.

L.3.8.3 Pembuatan Larutan Ekstrak 100 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 10000 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm} \\
 V_1 &= \frac{1000 \text{ mL.ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\
 V_1 &= 0,1 \text{ mL} = 100 \text{ }\mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Jadi, pembuatan larutan ekstrak 100 ppm dilakukan dengan melarutkan sebanyak 100 μL dalam 10 mL air laut.

L.3.8.4 Pembuatan Larutan Ekstrak 250 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 250 \text{ ppm} \\
 V_1 &= \frac{2500 \text{ mL.ppm}}{1000 \text{ ppm}} \\
 V_1 &= 2,5 \text{ mL} = 2500 \text{ }\mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Jadi, pembuatan larutan ekstrak 250 ppm dilakukan dengan melarutkan sebanyak 2500 μL dalam 10 mL air laut.

L.3.8.5 Pembuatan Larutan Ekstrak 500 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ mL} \times 500 \text{ ppm} \\
 V_1 &= \frac{5000 \text{ mL.ppm}}{10000 \text{ ppm}} \\
 V_1 &= 5 \text{ mL} = 5000 \text{ }\mu\text{L}
 \end{aligned}$$

Jadi, pembuatan larutan ekstrak 500 ppm dilakukan dengan melarutkan sebanyak 500 μL dalam 10 mL air laut.

Lampiran 4 Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan

L.4.1 Penentuan Kadar Air Bekatul Beras Hitam

L.4.1.1 Data Berat Cawan Kosong

Ulangan	Berat cawan kosong		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	71,0956	73,3917	56,8823
Ulangan 2	71,0955	73,3910	56,8822
Ulangan 3	71,0949	73,3912	56,8823

L.4.1.2 Data Berat Cawan + Sampel

Ulangan	Berat cawan kosong (gr) + bekatul sebelum dioven		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	76,0956	78,3917	61,8823
Ulangan 2	75,7489	78,0475	61,5384
Ulangan 3	75,6877	77,9934	61,4757
Ulangan	Berat cawan kosong (gr) + bekatul setelah dioven		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	75,7160	78,0155	61,5100
Ulangan 2	75,6504	77,9548	61,4376
Ulangan 3	75,6470	77,9452	61,4256

1. Kadar air sampel pada cawan C1

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+kosong})} \times 100 \% \\
 &= \frac{75,7489 \text{ g} - 75,6504 \text{ g}}{75,7489 \text{ g} - 71,0955 \text{ g}} \times 100 \% \\
 &= 3,083 \%
 \end{aligned}$$

2. Kadar air sampel pada cawan C2

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+kosong})} \times 100 \% \\
 &= \frac{78,0475 \text{ g} - 77,9548 \text{ g}}{78,0475 \text{ g} - 73,3910 \text{ g}} \times 100 \% = 1,978 \%
 \end{aligned}$$

3. Kadar air sampel pada cawan C3

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air} &= \frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+kosong})} \times 100\% \\
 &= \frac{61,5384 \text{ g} - 61,4376 \text{ g}}{61,5384 \text{ g} - 56,8822 \text{ g}} \times 100 \% = 2.163\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air rata-rata} &= \frac{3,083\% + 1,978\% + 2,163\%}{3} \\
 &= \frac{7,224\%}{3} \\
 &= 2,408\%
 \end{aligned}$$

L.4.3 Perhitungan Rendemen Ekstraksi Ultrasonik Bekatul Beras Hitam

L.4.3.1 Data Hasil Ekstraksi Ultrasonik Bekatul Beras Hitam

Variasi waktu (menit)	Warna Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
10	Hijau tua	2,7029	9,010
20	Hijau tua pekat	3,2256	10,752
30	Hijau tua pekat	3,3068	11,023

1. Hasil Rendemen Ekstrak Bekatul Beras Hitam waktu 10 menit

$$\begin{aligned}
 \% \text{rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{2,7029 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 9,010\%
 \end{aligned}$$

2. Hasil Rendemen Ekstrak Bekatul Beras Hitam waktu 20 menit

$$\begin{aligned}
 \% \text{rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{3,2256 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 10,752\%
 \end{aligned}$$

3. Hasil Rendemen Ekstrak Bekatul Beras Hitam waktu 30 menit

$$\begin{aligned}
 \% \text{rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak pekat (g)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{3,3068 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 11,023\%
 \end{aligned}$$

L.4.4 Hasil Uji Toksisitas Bekatul Beras Hitam

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Kematian}}{\text{jumlah larva uji (10 ekor)}} \times 100\%$$

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{Jumlah keseluruhan larva (50)}$$

1. Perhitungan pada konsentrasi 25 ppm (E1)

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Kematian}}{\text{jumlah larva uji (10 ekor)}} \times 100\%$$

$$= \frac{1}{10} \times 100\%$$

$$= 10\%$$

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{Jumlah keseluruhan larva (50)}$$

$$= 10\% \times 50$$

$$= 5$$

2. Perhitungan pada konsentrasi 50 ppm (E2)

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Kematian}}{\text{jumlah larva uji (10 ekor)}} \times 100\%$$

$$= \frac{3}{10} \times 100\%$$

$$= 30\%$$

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{Jumlah keseluruhan larva (50)}$$

$$= 30\% \times 50$$

$$= 15$$

3. Perhitungan pada konsentrasi 100 ppm (E3)

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{Kematian}}{\text{jumlah larva uji (10 ekor)}} \times 100\%$$

$$= \frac{4}{10} \times 100\%$$

$$= 40\%$$

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{Jumlah keseluruhan larva (50)}$$

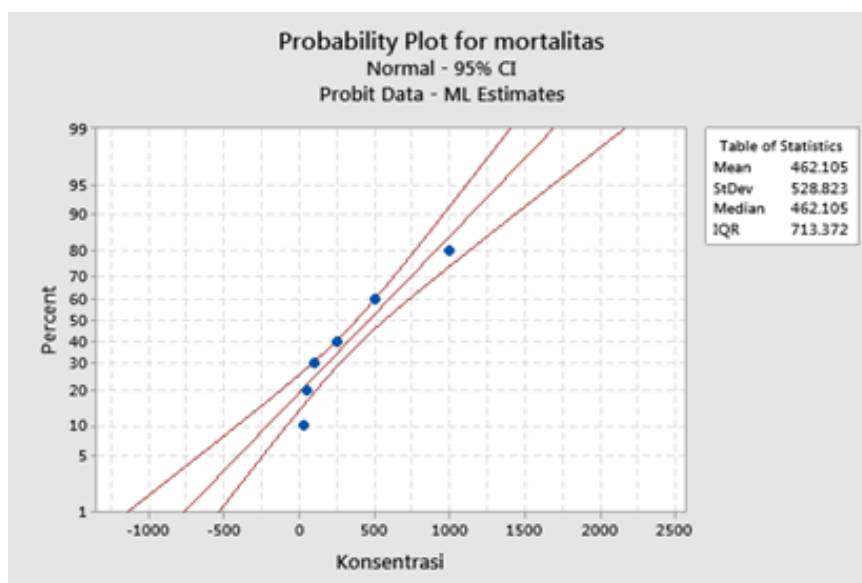
$$= 40\% \times 50$$

$$= 20$$

L.4.4.1 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Hitam Selama 10 menit (E1)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					modus	% mortalitas	mortalitas
	I	II	III	IV	V			
0*	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	1	1	1	1	2	1	10	5
50	1	2	2	2	3	2	20	10
100	3	3	4	3	4	3	30	15
250	4	5	5	4	4	4	40	20
500	6	7	6	5	6	6	60	30
1000	7	8	8	8	7	7	70	40

		Standard Error	95.0% Fiducial CI	
Percent	Percentile		Lower	Upper
50	462.105	45.8154	378.739	565.436

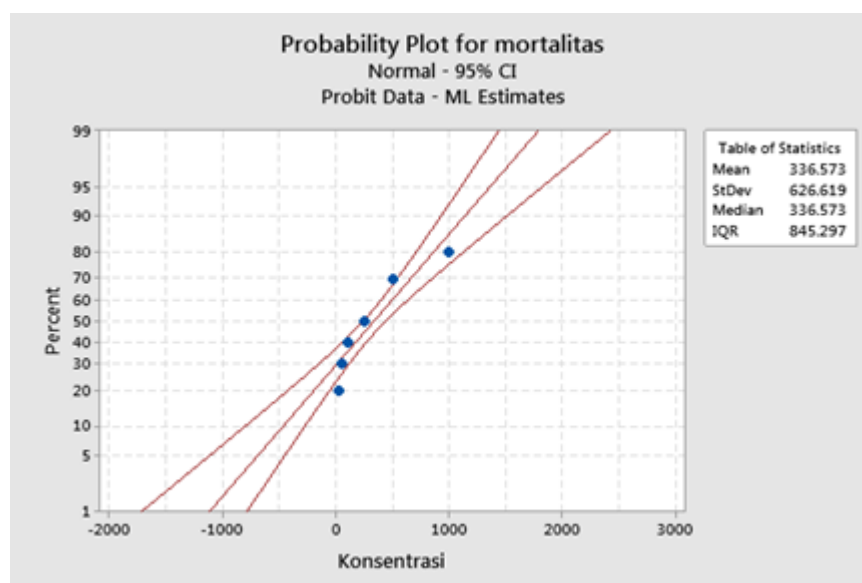


L.4.4.2 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Hitam Selama 20 menit (E3)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					modus	% mortalitas	mortalitas
	I	II	III	IV	V			
0*	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	1	2	2	1	2	2	20	10
50	2	3	2	3	3	3	30	15
100	5	4	3	4	4	4	40	20
250	5	7	5	6	5	5	50	25
500	7	8	7	7	8	7	70	35
1000	8	9	8	10	8	8	80	40

Table of Percentiles

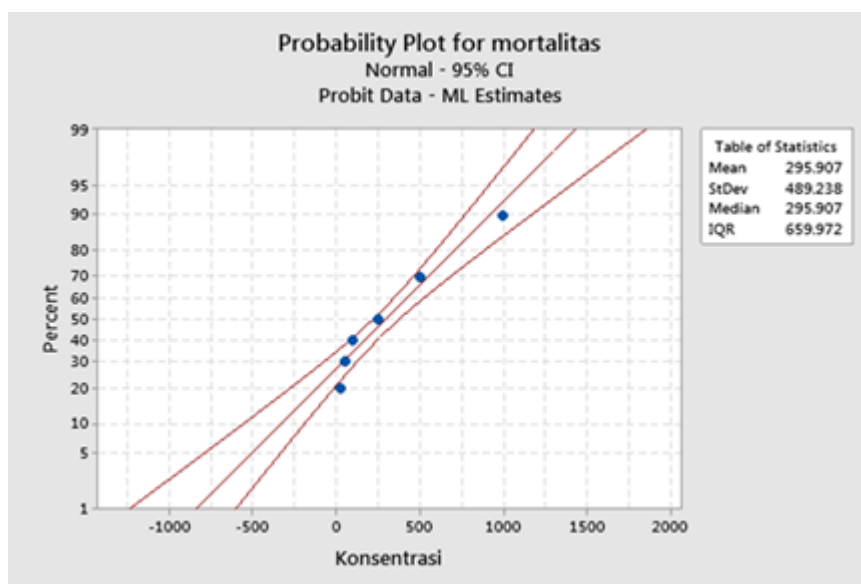
		Standard 95.0% Fiducial CI		
Percent	Percentile	Error	Lower	Upper
50	336.573	48.1792	241.734	439.558



L.4.4.3 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Hitam Selama 30 menit (E3)

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Larva yang Mati (ekor)					modus	% mortalitas	mortalitas
	I	II	III	IV	V			
0*	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	2	1	2	1	2	2	20	10
50	4	3	3	4	3	3	30	15
100	5	4	5	4	4	4	40	20
250	5	6	5	7	5	5	50	25
500	8	7	8	7	7	7	70	35
1000	10	9	9	10	9	9	90	45

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
50	295.907	38.5163	220.019	376.451



Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian

L.5.1 Uji Gravimetri

 Penimbangan Cawan Kosong	 Pengovenan cawan
 Pendinginan cawan dalam desikator	 Penimbangan serbuk+cawan konstan
 Pengovenan cawan+ serbuk	 Pendinginan cawan+serbuk dalam desikator

L.5.2 Ekstraksi Ultrasonik Bekatul Beras Hitam

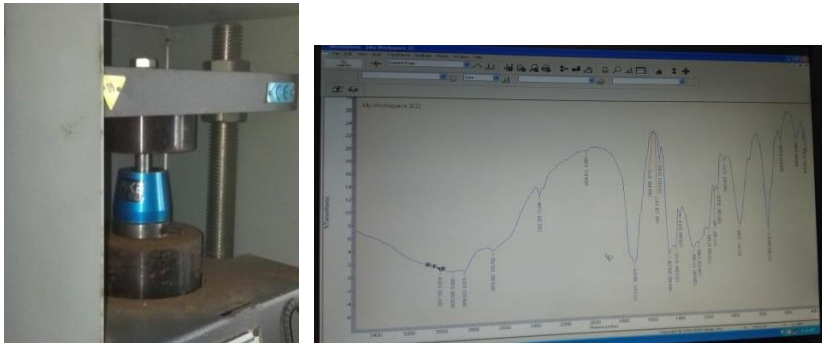
 Penimbangan sampel	 Proses ekstraksi
---	--

 Penyaringan filtrat dengan ampas	 Hasil filtrat
 Penguapan dengan <i>rotary evaporator</i>	 Hasil ekstrak bekatul beras hitam

L.5.3 Uji Toksisitas

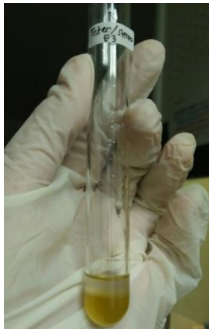
 Penetasan larva udang	 Pembuatan larutan stok
 Penguapan pelarut	 Pembuatan larutan ragi roti
 Vortex botol vial	 Penambahan larva udang

L.5.4 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer FTIR



L.5.5 Uji Fitokimia

L.5.5.1 Uji Steroid dan triterpenoid



Triterpenoid dan Steroid

L.5.5.2 Uji Alkaloid



Reagen Meyer



Reagen Dragendorff

L.5.5.3 Uji Tannin



L.5.5.4 Uji Flavonoid**L.5.5.5 Uji Saponin**