UJI TOKSISITAS EKSTRAK n-HEKSANA BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* L.) DENGAN VARIASI LAMA EKSTRAKSI

SKRIPSI

Oleh:
ODELIA ASPASYA HARIANTO
NIM. 18630026

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

UJI TOKSISITAS EKSTRAK n-HEKSANA BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* L.) DENGAN VARIASI LAMA EKSTRAKSI

SKRIPSI

Oleh:
ODELIA ASPASYA HARIANTO
NIM. 18630026

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

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

UJI TOKSISITAS EKSTRAK n-HEKSANA BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina Leach*) DENGAN VARIASI LAMA EKSTRAKSI

SKRIPSI

Oleh :
ODELIA ASPASYA HARIANTO
NIM. 18630026

Telah Diperiksa dan Disetujui
Tanggal : 11 Desember 2023

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P	Oky Bagas Prasetyo, M.Pd
NIP. 19750410 200501 2 009	NIDT. 19890113 20180201 1 224

Mengetahui,
Ketua Program Studi

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

UJI TOKSISITAS EKSTRAK n-HEKSANA BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina Leach*) METODE ULTRASONIK DENGAN VARIASI LAMA EKSTRAKSI

SKRIPSI

Oleh:
ODELIA ASPASYA HARIANTO
NIM. 18630026

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

Penguji Utama	**: Dr. Anik Maunatin, S.T, M.P** **NIDT. 19760105 20180201 2 248**	(.....)
Ketua Penguji	**: Ahmad Hanapi, M.Sc** **NIDT. 19851225 20160801 1 069**	(.....)
Sekretaris Penguji	**: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P** **NIP. 19750410 200501 2 009**	(.....)
Anggota Penguji	**: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd** **NIDT. 19890113 20180201 1 224**	(.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810801 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	: Odelia Aspasya Harianto
NIM	: 18630026
Program Studi	: Kimia
Fakultas	: Sains dan Teknologi
Judul Penelitian	: Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Merah Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* L.) Metode Ultrasonik Dengan 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, 22 Desember 2023
Yang membuat pernyataan,

Odelia Aspasya Harianto
NIM. 18630026

MOTTO

"just do it and being present"

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 dengan baik. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

Kedua orang tua saya, Bapak Agus Harianto dan Ibu Rusmirati. Untuk mama, terimakasih untuk ruang nyaman pertama sebelum merasakan udara di bumi. Untuk papa, terimakasih untuk bisikan cinta pertama sebelum mendengarkan kebohongan di bumi. Terimakasih untuk harapan yang ditanam saat hanya bisa menangis dipelukan. Terimakasih untuk pengingat, saat sedang dalam masa pencarian. Terimakasih untuk kebesaran hati, saat tumbuh dan sudah memiliki pemikiran sendiri yang tidak selalu sejalan.

Untuk kakak saya Galang Pradana Harianto, terimakasih sudah memberi rasa dilindungi. Terimakasih sudah memberi rasa sayang. Terimakasih sudah membimbing. Untuk adik saya Griselda Aurelia Agsmira Harianto, terimakasih sudah mau dilindungi walau tak seberapa. Terimakasih sudah menerima rasa sayang walau masih suka marah. Terimakasih sudah mau menerima bimbingan walau masih salah arah.

Untuk keluarga besar Bapak Handoyo Saputro (papi) dan Ibu Maria Kristina (mami). Terimakasih atas semua dukungan baik secara materi maupun non materi serta kepercayaan yang diberikan kepada saya selama ini.

Seluruh dosen kimia UIN Malang khususnya Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P selaku dosen wali sekaligus dosen pembimbing yang selalu memotivasi dan membimbing saya selama perkuliahan. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd selaku pembimbing yang selalu memberikan dukungan dan bimbingannya.

Tak lupa, saya sampaikan terima kasih kepada sahabat dan teman-teman saya, grup "Ponpes Himatitan" (Dita Nur, Widya), "Roasted" (Jek, Arip, Dita K), "Sukses yok" (Dita K, Nida, Della, Bella, Bunga, Mahmudah), Amor, Kak Taufiq, Zaed, Anwar, Anam dan kepada sepupu saya Sasa yang mau direpotkan dalam segala hal, yang selalu memberikan doa, semangat, canda tawa, kebersamaan dan semua kenangan indah. Semoga kita selalu tertaut meski terpisah jarak dan waktu.

Untuk aku, terimakasih untuk semuanya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul "Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Merah Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* L.) Dengan Variasi Lama Ekstraksi". Sholawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membuka jalan keselamatan untuk kita semua, serta umtuk para keluarga, sahabat, dan umatnya. Tujuan dari penyusunan skripsi ini adalah untuk melanjutkan penelitian di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Skripsi ini dapat disusun dan diselesaikan atas kontribusi, bantuan, doa, semangat, motivasi, dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. Allah Swt. atas limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan proposal penelitian dengan baik.
2. Bapak Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

5. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P selaku dosen pembimbing utama serta dosen wali yang telah membimbing, memotivasi dan mengarahkan penulis.
6. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd selaku dosen pembimbing agama yang telah membimbing, memotivasi dan mengarahkan penulis.
7. Seluruh dosen jurusan kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman dan wawasan kepada penulis.
8. Kedua orang tua, kakak dan adik penulis serta seluruh keluarga penulis yang selalu mendo'akan dan memberikan dukungan baik moril maupun materil.
9. Teman – teman kimia 2018, khususnya kimia C 2018 dan semua teman yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. 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 memberkan manfaat yang sebesar-besarnya.

Malang, 21 Oktober 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN ii
HALAMAN PERSETUJUAN iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iv
MOTTO v
HALAMAN PERSEMBAHAN vi
KATA PENGANTAR vii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR LAMPIRAN xi
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii
ABSTRAK xiv
ABSTRACT xv
ملخص البحث xvi

BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 6
1.3 Tujuan Penelitian 6
1.4 Batasan Penelitian 6
1.5 Manfaat Penelitian 7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 8
2.1 Bekatul 8
2.2 Manfaat dan Kandungan Bekatul 9
2.3 Ekstraksi Metode Ultrasonik 10
2.4 Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lehality Test* (BSLT) 12
2.5 Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder 15
2.5.1 Flavonoid 15
2.5.2 Alkaloid 17
2.5.3 Saponin 18
2.5.4 Tanin 19
2.5.5 Triterpenoid dan Steroid 20
2.6 Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Menggunakan Spektrofotometer FTIR 22

BAB III METODOLOGI 24
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 24
3.2 Alat dan Bahan 24
3.2.1 Alat 24
3.2.2 Bahan 24
3.3 Rancangan Penelitian 25
3.4 Tahapan Penelitian 26

3.5 Pelaksanaan Penelitian 26
3.5.1 Preparasi Sampel 26
3.5.2 Analisis Kadar Air secara Gravimetri 27
3.5.3 Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Merah 27
3.5.4 Uji Toksisitas dengan Larva Udang (*Artemia salina* L.) 28
3.5.4.1 Preparasi Larva *Artemia salina* L. 28
3.5.4.2 Uji Toksisitas 28
3.5.5 Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dengan Reagen 29
3.5.5.1 Uji Flavonoid 29
3.5.5.2 Uji Alkaloid 30
3.5.5.3 Uji Saponin 30
3.5.5.4 Uji Tanin 30
3.5.5.5 Uji Triterpenoid dan Steroid 31
3.5.6. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Merah menggunakan Spektrofotometer FTIR 31
3.5.7 Analisis Data 31

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 33
4.1 Preparasi Sampel 33
4.2 Analisis Kadar Air Secara Gravimetri 34
4.3 Ekstraksi Senyawa Bioaktif Senyawa Bekatul Beras Merah Menggunakan Metode Ultrasonik 34
4.4 Uji Toksisitas Bekatul Beras Merah 37
4.4.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* L. 37
4.4.2 Uji Toksisitas 37
4.5 Uji Fitokimia 41
4.5.1 Triterpenoid 42
4.6 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR 44

BAB V PENUTUP 50
5.1 Kesimpulan 50
5.2 Saran 50

DAFTAR PUSTAKA 51
LAMPIRAN 58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian 58
Lampiran 2 Skema Kerja 58
Lampiran 3 Perhitungan dan Pembuatan Reagen dan Larutan 64
Lampiran 4 Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan 69
Lampiran 5 Data Hasil Spektrofotometer FTIR Bekatul Beras Merah 81
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian 82

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi nutrisi bekatul (*edible grade*) 9
Tabel 2.2 Kategori toksisitas bahan 14
Tabel 3.1 Data pengolahan LC_{50} pada minitab 32
Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak n-heksana bekatul beras merah 35
Tabel 4.2 Nilai LC_{50} ekstrak n-heksana bekatul beras merah 39
Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia ekstrak bekatul beras merah 42
Tabel 4.4 Interpretasi spektra FTIR ekstrak bekatul beras merah 46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Bagian-bagian biji padi 8
Gambar 2. 2 Larva udang (*Artemia salina* L.) 13
Gambar 2. 3 Contoh struktur senyawa flavonoid 16
Gambar 2. 4 Struktur alkaloid 18
Gambar 2. 5 Struktur saponin yang terikat dengan steroid 19
Gambar 2. 6 Struktur tannin 20
Gambar 2. 7 Struktur terpenoid 21
Gambar 2. 8 Struktur steroid 22
Gambar 4. 1 Sampel bekatul beras merah 33
Gambar 4. 2 Hasil ekstraksi variasi waktu (a) E1, (b) E2, (c) E3 36
Gambar 4. 3 Dugaan reaksi yang terjadi pada senyawa triterpenoid 43
Gambar 4. 4 Hasil spektra FTIR ekstrak bekatul beras merah 45

ABSTRAK

Harianto, Odelia Aspasya. **Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Merah Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* L.) Dengan 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: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.

Kata Kunci: Bekatul, Toksisitas, Metabolit Sekunder, Ultrasonik

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

Bekatul beras merah 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 merah diidentifikasi senyawa bioaktifnya dengan uji fitokimia dan menggunakan FTIR.

Penelitian menunjukkan bahwa hasil uji toksisitas ekstrak n-heksana bekatul beras merah dengan nilai tertinggi pada waktu 30 menit diperoleh nilai LC_{50} sebesar 213,00 sedangkan nilai terendah didapatkan dari waktu ekstraksi 10 menit dengan nilai LC_{50} sebesar 485,87 ppm. Hasil identifikasi menggunakan FTIR menunjukkan adanya beberapa gugus, antara lain –OH, C=O, C=C dan Geminal Dimetil.

ABSTRACT

Harianto, Odelia Aspasya. **Toxicity Test of n-Hexane extract of red rice bran on Shrimp Larvae (*Artemia salina* L.) with various extraction time.** Thesis. Department of Chemistry, Faculty of science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P. Supervisor II: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.

Keyword: Rice bran, Toxicity, Secondary metabolic, Ultrasonic.

Red rice bran is a by-product of millied rice into rice. Several studies have shown the anthocyanin content in red rice bran and it has been proven its high antioxidant activities. The purpose of this study was to test the toxicity of ultrasonic extraction of n-Hexane of red rice bran and identification using phytochemical test and Fourier Transform Infra red (FTIR).

Red rice bran was extracted using ultrasounic method using n-Hexane as solvent for various time 10, 20,30 minutes. The results of each extract were then tested for toxicity using the Brine shrimp Lehality test (BSLT) method. The best result of red rice bran extract was identified further to investigate its bioactive compound using phytochemical and FTIR.

This study shows that the result of toxicity test of n-hexane extract of brown rice bran with the highest value at 30 minutes had an LC_{50} value of 213.00 while the lowest value was obtained from an extraction time of 10 minutes with an LC_{50} value of 485.87 ppm. Identification result using FTIR shows that there are groups of –OH, C=O, C=C and Geminal dimethyl.

ملخص البحث

هاريانتو، أوديليا أسبسيا. ٢٠٢٣. اختبار سمية مستخلص n-hexane من نخالة الأرز البني ضد يرقات الجمبري (أرتيميا سالينا ليتش) مع اختلافات في مدة الاستخراج. بحث جامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجية، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة أكيون الجنة، الماجستيرة. المشرف الثاني: أوكي بكاس براسيتيو، الماجستير

الكلمات الرئيسية: نخالة، سمية، مستقلبات ثانوية، بالموجات فوق الصوتية

نخالة الأرز البني هي منتج ثانوي لطحن الأرز إلى أرز. تظهر بعض البحوث أن نخالة الأرز البني تحتوي على الأنثوسيانين وقد ثبت أن لها نشاطا عاليا مضادا للأكسدة. يهدف هذا البحث إلى اختبار سمية نتائج الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية لنخالة الأرز البني n-hexane وتحديدها باستخدام المقايسات الكيميائية النباتية و فورييه تحويل الأشعة تحت الحمراء(FTIR) .

تم استخراج نخالة الأرز البني بطريقة الموجات فوق الصوتية باستخدام مذيب n-Hexane مع اختلافات زمنية تبلغ ١٠ و ٢٠ و ٣٠ دقيقة. ثم تم اختبار نتائج كل مستخلص للسمية باستخدام طريقة اختبار ليهاليتي الجمبري الملحي (BSLT) . علاوة على ذلك، تم تحديد أفضل نتائج مستخلص نخالة الأرز البني للمركبات النشطة بيولوجيا عن طريق الاختبارات الكيميائية النباتية واستخدام.FTIR

تظهر الأبحاث أن نتائج اختبار السمية لمستخلص نخالة الأرز البني n-hexane بأعلى قيمة خلال ٣٠ دقيقة حصلت على قيمة LC_{50} تبلغ ٢١٣,٠٠ بينما تم الحصول على أقل قيمة من وقت استخراج مدته ١٠ دقائق بقيمة LC_{50} تبلغ ٤٨٥,٨٧ ppm. أظهرت نتائج التعرف باستخدام FTIR وجود مجموعات OH- و C = Oو C = C و جيمينال ثنائي ميثيل.

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Beras sebagai substrat memiliki beberapa macam dan warna yang berbeda, secara genetik antara lain beras biasa yang berwarna putih agak transparan karena hanya memiliki sedikit aleuron, dan kandungan amilosa umumnya sekitar 20%. Beras merah, akibat aleuron mengandung gen yang memproduksi antosianin yang merupakan sumber warna merah atau ungu dan beras hitam yang sangat langka disebabkan aleuron dan endospermia memproduksi antosianin dengan intensitas tinggi sehingga berwarna ungu pekat mendekati hitam. Di dalam beras merah dan beras hitam terdapat sejumlah komponen bioaktif, seperti pigmen dan senyawa flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan (Wanti, 2015). Senyawa bioaktif pada beras berpigmen dapat mengurangi stres oksidatif, mencegah kanker, kardiovaskular, komplikasi diabetes, dan lainnya (Walter dan Marchesan, 2011).

Bekatul berasal dari lapisan dalam kulit padi (bran) yang terpisah dari beras saat penyosohan selama penggilingan, memiliki warna kuning kecoklatan dengan aroma sama seperti aroma berasnya (Mas'ud dan Pabbenteng, 2016). Bekatul memiliki kandungan minyak 12-22%, protein 11-17%, serat 6-14%, kelembaban 10- 15%, abu 8-17%, mineral, vitamin dan komponen fenolik. Vitamin di dalam bekatul antara lain, vitamin E, thiamin, niacin, dan mineral antara lain alumunium, kalsium, klorin, besi, magnesium, mangan, fosfor, potassium, sodium dan zinc (Pourali *et al*., 2010; Srikaeo, 2014). Bekatul ini biasanya hanya digunakan sebagai komponen pakan ternak dan unggas, dan juga

belum dimanfaatkan secara optimal, baik dari segi daya guna maupun nilai ekonomisnya (Latifah, 2018).

Sebagai hamba Allah Swt. yang beriman, kita seharusnya senantiasa sadar bahwa diperintahkan untuk berfikir dan mencari manfaat dari apa-apa yang diciptakan oleh Allah di muka bumi. Sebagaimana Allah Swt. telah berfirman dalam surah Al-An'am ayat 95:

اِنَّ اللّٰهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوٰىۗ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَمُخْرِجُ الْمَيِّتِ مِنَ الْحَيِّ ذٰلِكُمُ اللّٰهُ فَاَنّٰى تُؤْفَكُوْنَ

Artinya:

"Sungguh, Allah yang menumbuhkan butir (padi-padian) dan biji (kurma). Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. Itulah (kekuasaan) Allah, maka mengapa kamu masih berpaling?"

Menurut Shihab (2002), kata *Hubbi* dalam surat Al-An'am ayat 95 memiliki makna tumbuhan yang berbutir seperti padi-padian. Demikian juga tafsir Ibnu Katsir (2001), Allah Swt. telah menumbuhkan berbagai macam pohon dari biji-bijian yang menghasilkan buah-buahan yang berbeda dari segi warna, bentuk dan kegunaannya. Salah satu manfaat yang diharapkan dari tumbuhan adalah dapat digunakan sebagai obat. Padi merupakan tumbuhan berbutir yang diciptakan Allah dengan banyak manfaat. Tidak hanya butir buahnya, produk samping dari butir padi juga mempunyai banyak manfaat salah satunya bekatul.

Uji toksisitas ialah suatu uji aktivitas biologi untuk melihat dan mendeteksi adanya efek toksik yang dihasilkan pada ekstrak ataupun fraksi isolat tanaman dengan cara mengamati respon kematian pada hewan yang akan diuji.

Hewan yang biasa digunakan untuk uji toksisitas ialah larva udang, larva nyamuk dan ikan. Suatu ekstrak dikatakan toksik jika LC_{50}< 1000 ppm. LC_{50} merupakan konsentrasi suatu zat yang dapat menyebabkan 50% kematian pada hewan uji. Semakin kecil LC_{50} maka akan semakin toksik (Sadly *et al*., 2015).

Uji toksisitas tahap awal dilakukan dengan diujikan terhadap organisme akuatik untuk mengetahui nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) (Soemirat, 2005). Pengujian bioaktivitasnya dilakukan dengan uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Artemia* digunakan karena memiliki kesamaan tanggapan dengan mamalia (Solis, 1993). Metode ini dikenal sebagai metode yang mudah, cepat, murah, dan dapat dipertanggungjawabkan (Meyer *et al*., 1982). Hasil penelitian Jannah (2020) uji toksisitas ekstrak bekatul hasil ekstraksi ultrasonik dengan variasi pelarut dan lama ekstraksi metode BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test)* menyatakan nilai toksisitas terbaik menggunakan pelarut n-heksana dengan lama ekstraksi 20 menit yaitu LC_{50} 592,901 ppm.

Proses ekstraksi memiliki beberapa jenis metode konvesional (sederhana) seperti soxhletasi, maserasi, perkolasi dan fraksinasi. Namun, metode konvensional ini memiliki beberapa kelemahan seperti membutuhkan waktu yang relative lama, ekstrak kurang maksimal dan membutuhkan banyak pelarut (Rahmah, 2018) sehingga kurang efektif (Zou *et al*., 2014). Oleh karena itu, untuk mengetahui senyawa aktif dari bekatul beras merah dilakukan dengan metode ekstraksi ultrasonik.

Metode sonikasi atau *Ultrasonic-assisted extraction* (UAE) adalah metode yang menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi lebih dari 20 kHz.

Salah satu manfaat metode ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik adalah untuk mempercepat proses ekstraksi (Kuldiloke, 2002). Penelitian Adhiksana (2017), menyebutkan bahwa hasil ekstraksi pektin dari kulit buah pisang dengan metode konvensional selama 8 jam didapatkan rendemen 18,3 %, sedangkan ekstraksi dengan metode ultrasonik selama 60 menit didapatkan rendemen sebesar 25,59 %.

Pemilihan pelarut ekstraksi merupakan faktor penting dalam melakukan ekstraksi karena dapat mempengaruhi jumlah dan senyawa yang akan diekstrak (Safitri, 2018). Syarat pelarut yang baik digunakan untuk ekstraksi yaitu dapat melarutkan zat yang akan diekstrak, titik didih lebih rendah dari sampel, tidak larut dalam air, bersifat inert, tidak mudah terbakar, dan murah (Guenther, 1987). Berdasarkan penelitian Norhaizan, *et al* (2011) asam fitat hasil ekstraksi bekatul beras putih menggunakan n-heksana dengan metode ultrasonik water bath 30 menit dapat 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, *et al* (2012) menyebutkan bahwa hasil ekstraksi bekatul varietas ketan dengan pelarut n-heksana didapatkan randemen 14,94% selama 2,5 jam yang menunjukkan nilai paling tinggi dibandingkan etil asetat, metanol, etanol, isopropanol dan aseton teknis. Mutiara (2010) mengatakan bahwa ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana didapatkan randemen paling tinggi dibandingkan petroleum eter.

Aktivitas toksik dari bekatul beras merah dapat diketahui dengan melihat kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam bekatul. Berdasarkan penelitian Jannah (2020) diketahui bahwa ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana bekatul

beras putih mengandung senyawa triterpenoid dan steroid. Pada penelitian Seekhaw, *et al* (2018) membuktikan bahwa ekstrak n-heksana beras ketan mengandung triterpenoid. Kandungan senyawa aktif dalam bekatul tersebut dapat diketahui dengan uji fitokimia. Uji fitokimia merupakan uji kualitatif senyawa aktif yang terkandung didalam ekstrak tanaman, sehingga senyawa yang terdapat di dalamnya dapat diketahui.

Alasan lain dilakukan uji fitokimia ialah untuk menentukan ciri-ciri dari golongan senyawa aktif yang menyebabkan efek toksik atau efek yang bermanfaat, yang ditunjukkan dari ekstrak kasar tumbuhan bila diuji dengan sistem biologi (Harborne, 1987). Pada penelitian Moko, *et al* (2014) membuktikan bahwa skrining fitokimia terhadap bekatul beras merah dengan menggunakan ekstrak butanol, etil asetat, dan n-heksana menunjukkan bahwa bekatul beras merah mengandung golongan senyawa metabolit sekunder antara lain fenolik, flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Senyawa steroid, triterpenoid, dan saponin diduga dapat bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L. pada kadar tertentu (Irmawan, 2018; Nur, 2014; Marlinda, 2012).

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan uji toksisitas ekstrak n-heksana bekatul beras merah terhadap larva udang (*Artemia salina* L.) dengan variasi lama ekstraksi 10, 20, dan 30 menit untuk mengetahui efek toksik jika dipaparkan suatu organisme dengan menggunakan ekstraksi ultrasonik. Penggunaan metode ekstraksi ultrasonik dipilih karena ekstraksi ini tidak membutuhkan banyak waktu. Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode BSLT yang merupakan uji awal untuk mengetahui aktifitas toksik dari suatu senyawa yang terkandung didalam ekstrak. Hasil dari penilitian ini diharapkan nilai toksisitas bekatul beras merah

dengan LC_{50} yang didapatkan rendah sehingga dapat dikembangkan dalam dunia farmakologi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh lama ekstraksi bekatul beras merah terhadap nilai toksisitas larva udang (*Artemia salina* L.)?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder dari hasil terbaik ekstrak n- heksana dengan menggunakan uji fitokimia dan FTIR?

1.3 Tujuan Penelitian

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

1.4 Batasan Penelitian

1. Sampel yang digunakan adalah bekatul beras merah.
2. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ultrasonik.
3. Pelarut ekstraksi menggunakan pelarut *n*-heksana.
4. Variasi waktu lama ekstraksi 10, 20, dan 30 menit.
5. Hewan uji yang digunakan dalam pengujian toksisitas adalah larva udang (*Artemia salina* L.)
6. Uji toksisitas menggunakan metode BSLT *(Brine Shrimp Lethality Test).*
7. Identifikasi senyawa aktif bekatul menggunakan FTIR *(Fourier-transform infrared spectroscopy).*

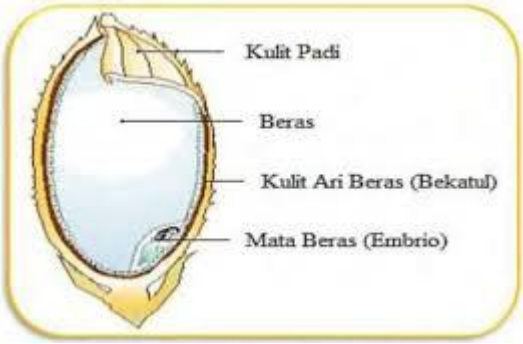
1.5 Manfaat Penelitian

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

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bekatul

Bekatul merupakan produk samping penggilingan padi menjadi beras (Suryadinata, 2015). Cahyanine (2008) menyebutkan bahwa dalam proses penggilingan padi menjadi beras giling diperoleh hasil samping sebagai berikut: (1) sekam (15-20%), yaitu bagian pembungkus atau kulit luar; (2) bekatul (8-12%), yang merupakan kulit ari, dihasilkan dari proses penyosohan dan (3) menir (3%), merupakan bagian beras yang hancur. Warna bekatul padi bervariasi dari coklat sampai coklat tua (Astawan, 2009).



Gambar 2. 1 Bagian-bagian biji padi (Tuarita, 2016)

Beras pecah kulit terdiri atas bran (dedak dan bekatul), endosperma, dan embrio (lembaga). Endosperma terdiri atas kulit ari (lapisan aleuron) dan bagian berpati. Selanjutnya, bagian endosperma tersebut akan mengalami proses penyosohan, menghasilkan beras sosoh, dedak, dan bekatul (Astawan, 2009).

2.2 Manfaat dan Kandungan Bekatul

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

Tabel 2.1 Komposisi nutrisi bekatul (*edible grade*)

Nutrien	Kandungan (per 100 g)	Nutrien	Kandungan (per 100 g)
Analisis Proksimat		Vitamin	
Protein	16,5 g	Biotin	5,5 mg
Lemak	21,3 g	Kolin	226 mg
Mineral	8,3 g	Asam Folat	83 µg
Total Karbohidrat Kompleks	49,4 g	Inositol	982 mg
Serat Pangan	25,3 g	Mineral	
Serat Larut Air	2,1 g	Besi (Fe)	11,0 mg
Pati	24,1 g	Seng (Zn)	6,4 mg
Gula Sederhana	5,0 g	Mangan (Mg)	28,6 mg
Tembaga (Cu)			
Vitamin	0,6 mg	Iodin	67 µg
Tiamin (B1)	3,0 mg	Kalsium (Ca)	80 mg
Riboflavin (B2)	0,4 mg	Fosfor (P)	2,1 g
Niasin (B3)	43 mg	Kalium (K)	1,9 g
Asam Pantotenat (B5)	7 mg	Natrium (Na)	20,3 g
Piridoksin (B6)	0,49 mg	Magnesium (Mg)	0,9 g

Sumber: Tuarita (2016)

Bekatul biasanya hanya diguakan sebagai komponen pakan ternak dan unggas (Suprijana, 1997), di samping sebagai pakan ternak sebenarnya bekatul padi mempunyai beberapa kegunaan lain. Bekatul mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar trigliserida (sifat hipolemik) dan kolestrol (sifat hipokolesterolemik) darah (Kahlon dan Chow, 1997). Bekatul mengandung lemak tak jenuh yang tinggi sehingga aman dikonsumsi oleh para penderita kolesterol dan penyakit jantung. Oleh karena itu bekatul dapat dimanfaatkan sebagai suplemen pangan untuk meningkatkan kesehatan manusia (Cahyanine *et al*., 2008; Ovani, 2013).

Menurut penelitian Chen dan Bergman (2005), bekatul mengandung komponen bioaktif seperti tokoferol, tokotrienol, dan oryzanol. Menurut Most *et al*., (2005), bekatul mengandung minyak yang cukup tinggi sekitar 20-30%. Menurut Suprijana (2002) bekatul mempunyai kandungan minyak bervariasi antara 12-15% tergantung dari varietas padi dan tingkat pengongsohan.

2.3 Ekstraksi Metode Ultrasonik

Metode ultrasonik adalah metode yang menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 KHz. Ultrasonik bersifat non-destructive dan non-invasive, sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (Kuldiloke, 2002). Ekstraksi ultrasonik atau biasa disebut dengan sonikasi merupakan metode yang memanfaatkan gelombang bunyi pada frekuensi 20 - 50 kHz yang bertransmisi pada medium cair yang memiliki efek gerakan vibrasi pada molekul yang melewatinya (Hindrywati, 2020). Metode ini memiliki 2 prinsip utama yang merupakan keunggulan

dibandingkan dengan metode yang lainnya, pertama proses kavitasi dan efek mekanik, yang kedua yaitu dapat meningkatkan efisiensi dan mengurangi waktu ekstraksi. Selain itu, ultrasonik juga dapat digunakan pada proses nonthermal dan thermal sehingga dekomposisi yang tidak tahan panas dapat dihindari (Ince, 2012).

Prinsip ekstraksi ultrasonik ialah tegangan mekanik dan kavitasi. Tegangan mekanik terjadi akibat perambatan gelombang ultrasonik mengenai sampel, sehingga sampel menjadi partikel dengan ruang yang kecil dan gelombang ini menimbulkan efek kavitasi yang akan memecah dinding sel dan pelarut akan terdifusi dalam sel menyebabkan senyawa aktif dalam sel akan keluar dan terekstraksi (Torres *et al*., 2017). Ketika proses ekstraksi ultrasonik berlangsung terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ultrasonik seperti intesitas amplitudo, ukuran partikel, jenis pelarut, pH media ekstraksi, waktu, dan temperatur (Widyasanti, 2008).

Ekstraksi menggunakan ultrasonik menyebabkan degradasi fenolat yang lebih sedikit dan merupakan proses ekstraksi yang jauh lebih cepat dalam ekstraksi senyawa fenolik (Dai dan Mumper, 2010). Metode ekstraksi ultrasonik memiliki beberapa kelebihan lain yaitu dapat mengeluarkan ekstrak dari matriks tanpa merusak struktur senyawa pada ekstrak, penggunaan pada temperatur rendah sehingga mencegah hilangnya atau menguapnya senyawa yang memiliki titik didih rendah (Handaratri dan Yuniati, 2019). Sebagian besar ekstraksi ultrasonik dilakukan dengan peralatan frekuensi rendah (20-60 kHz), terutama dengan senyawa fenolik bioaktif, karena frekuensi ini tidak mempengaruhi stabilitas mereka setelah diekstraksi. Pada rentang waktu ekstraksi 10-20 menit

90% dari perolehan total kandungan senyawa fenolik dapat dicapai sehingga menunjukkan laju ekstraksi yang sangat cepat (Torres *et al*., 2017)

Fuadi, (2012) menyatakan bahwa pada penelitian ekstraksi ultrasonik sebagai alat bantu ekstraksi oleoresin jahe menunjukkan bahwa proses ekstraksi menggunakan ultrasonik menghasilkan rendemen sebesar 7,434% dalam waktu 4 jam, sedangkan rendemen yang hampir sama diperoleh dalam waktu 7 jam untuk ekstraksi soxhlet, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode ekstraksi ultrasonik memiliki efisiensi waktu hampir 50% dibandingkan ekstraksi soxhlet.

2.4 Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lehality Test* (BSLT)

Toksisitas adalah kemampuan dari suatu senyawa atau molekul yang menimbulkan efek kerusakan pada bagian vital di dalam atau di luar tubuh makhluk hidup yang menyebabkan kematian pada hewan uji dalam waktu tertentu (Jannah, 2015). 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). Ekstrak tersebut bisa disebut toksik bila nilai LC_{50} menyebabkan 50% kematian pada kurang dari 1000 ppm, sebaliknya jika harga LC_{50} >1000µg/mL tidak toksik (Carballo, 2002). Metode yang sering digunakan dalam uji toksisitas yakni *Brine Shrimp Lethality Test* atau yang disingkat dengan BSLT.

Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) sering dipilih untuk uji toksisitas karena larva udang sangat rentang oleh beberapa senyawa toksik. metode BSLT dapat digunakan sebagai skrinning awal untuk antimalaria, antikanker, antitumor, dan residu pestisida (Lisdawati *et al*., 2006). Jenis larva

udang yang sering digunakan pada uji BSLT adalah *Artemia salina* L. yang merupakan model hewan yang ekstremofil yaitu dapat hidup di daerah yang ekstrim (Gajardo & Beardmore, 2012).

Artemia hidup planktonik di dalam air dengan kadar garam tinggi (15-300/mil), pH sekitar 7,3-8,4 dan suhu lingkungan 25-30°C dengan kadar oksigen sekitar 3 mg/L (Mudjiman, 1995). *Artemia salina L* diklasifikasikan sebagai berikut (Ganong & Barrett, 2012):

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

Gambar 2. 2 Larva Udang (*Artemia salina* L)

Metode uji yang dilakukan memakai *Artemia salina* L. sebagai hewan uji coba. *Artemia salina* L. adalah udang tingkat rendah yang hidup sebagai zooplankton. Uji ini ialah metode yang sangat efisien dan simpel, sebab persediaan telur larva udang yang melimpah, mudah menetas, cepat tumbuh, dan

mudah dirawat. Pengembangan tata cara ini didasarkan pada sifat unik dari larva udang yang sanggup menerima seluruh tipe zat dan bahan tanpa diseleksi terlebih dulu (Meyer, *et al*., 1982).

Selain itu, perkembangbiakan *Artemia salina* L. berlangsung cepat, hanya memerlukan sedikit sampel dan tidak memerlukan laboratorium khusus (Kristianti *et al*., 2006) dan hasilnya bisa dipercaya, yakni memiliki korelasi positif dengan uji sitotoksik pada sel kanker (Astuti *et al*., 2005). Menurut Panjaitan (2011), *Artemia salina* L. memiliki kesamaan tanggapan dengan mamalia seperti tipe DNA-*dependent* RNA *polymerase* (DNA yang mengarahkan proses transkripsi RNA). Hal ini menyebabkan senyawa atau ekstrak pada sistem tersebut dapat dideteksi melalui metode ini. Penggolongan aktivitas toksisitas berdasarkan nilai LC50 dapat dibedakan menjadi lima kategori (Mungenge *et al*., 2014).

Tabel 2.2 Kategori toksisitas bahan

Kategori	LC_{50} (µg/mL)
Sangat toksik	1 - 100
Tinggi	100 - 200
Sedang	200 - 500
Rendah	500 - 1000
Tidak toksik	>1000

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

Adapun penentuan potensi bioaktif dilakukan dengan membandingkan nilai Lethal Concentration (LC_{50}) berdasarkan (Rosyidah *et al*., 2020):

- LC_{50} 0-30 ppm, ekstrak berpotensi sebagai antikanker (sitotoksik)
- LC_{50} 30-200 ppm, ekstrak berpotensi sebagai antibakteri
- LC_{50} 200-1000 ppm, ekstrak berpotensi sebagai pestisida

2.5 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 tahap pendahuluan dalam suatu penelitian yang bertujuan untuk memberikan suatu gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa golongan alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, dll (Saragih & Arsita, 2019).

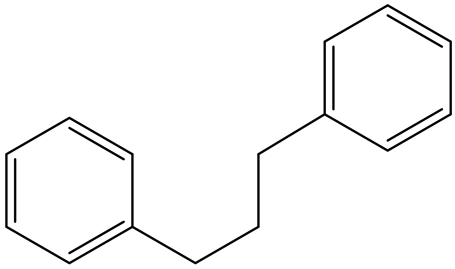
Menurut Kristianti *et al* (2008), metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal penting yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi.

2.5.1 Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai

alifatik tiga karbon (Wang *et al*., 2018). Flavonoid termasuk kedalam daftar salah satu senyawa fenol terbesar yang ditemukan dengan tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, dan glikosilasi pada strukturnya (Kristanti *et al*., 2008).

Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua gugus aromatik (benzene) yang digabungkan oleh jembatan karbon rantai propane (C3) membentuk susunan (C6-C3-C6) (Alfaridz dan Riezki., 2016). Pengelompokan senyawa flavonoid disusun berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan serta gugus hidroksilnya, sehingga dari susunan (C6-C3-C6) dapat dihasilkan tiga jenis struktur yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid (Masrihanah, 2020). Tiga jenis struktur flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Contoh struktur senyawa flavonoid (Masrihanah, 2020)

Apabila suatu ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, maka setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid pada metode Wilstater dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumoa yaitu glukosa,

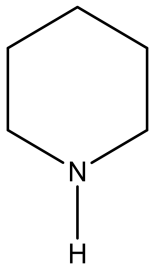
galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavonon. Flavanonol dan xanton (Mariana, 2013).

2.5.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu kelompok senyawa basa bernitrogen yang mayoritas heterosiklik serta ditemukan di tanaman. 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). Senyawa alkaloid dikelompokkan berdasarkan tipe cincin heterosiklik nitrogen (Kristianti, 2008).

Uji fitokimia senyawa alkaloid dilakukan dengan reagen meyer, Bouchardat, dan Dragendorf. Syahara & Siregar, (2019). Reaksi pengendapan yang terjadi saat pengujian alkaloid dikarenakan adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid mengganti ion-ion dalam pereaksi *Dragendroff* dan pereaksi Meyer. Hal ini mengakibatkan terbentuknya endapan jingga pada penambahan pereaksi Dragendroff karena nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K+ yang merupakan ion logam dan terbentuk endapan putih kekuningan pada penambahan pereaksi Meyer karena nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marlina *et al*., 2005; Sangi *et al*., 2008).

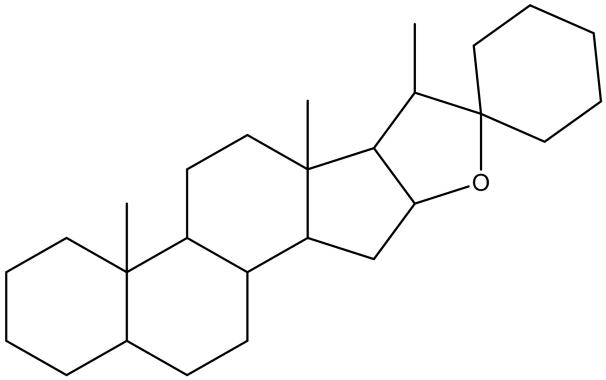
Alkaloid memiliki struktur inti diantaranya imidazole, piperidine, antropine, caffeine, dan quinidine. Berikut gambar dari stuktur inti alkaloid (Erdarini, 2016):



Gambar 2. 4 Struktur Alkaloid

2.5.3 Saponin

Saponin adalah salah satu glikosida yang sering ditemukan di tumbuhan. Senyawa ini bersifat kompleks yang mempunyai karakteristik berupa buih, sehingga waktu direaksikan dengan air dan dilakukan pengocokan akan terbentuk buih. Saponin merupakan golongan dari senyawa alam yang rumit serta memiliki massa molekul yang besar terdiri atas aglikon yaitu steroid maupun terpenoid dengan salah satu gula atau glikosida dan berdasarkan atas sifat kimiawinya saponin mempunyai efek yang positif bagi tubuh. Efek saponin terhadap kesehatan diantaranya antioksidan, aktivitas menghambat karies gigi dan agregasi trombosit, dan juga memliki efek anti inflamasi, analgesik, antifungi, dan sitotoksik (Gunawan, 2018).



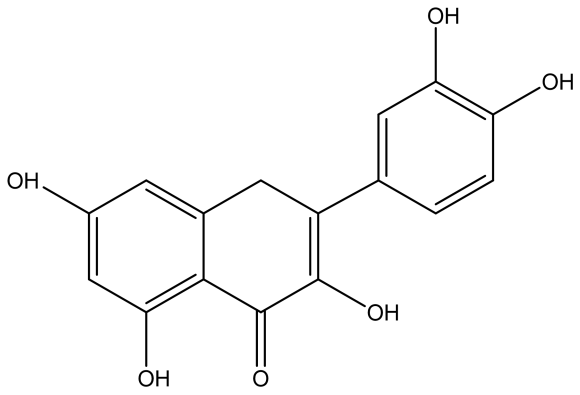
Gambar 2.5 Struktur saponin yang terikat dengan steroid (Nurzaman *et al*., 2018)

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

2.5.4 Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif polifenol yang masuk golongan flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan kuat, antiperadangan, dan antikanker. Tanin juga dikenal sebagai zat samak untuk pengawetan kulit, yang merupakan efek tanin yang utama sebagai adstringensia yang telah digunakan untuk pengencang kulit dalam kosmetik. Komponen utama yang terdapat pada tanin yaitu katekin yang diperoleh dengan metode ekstraksi (Yuliarti, 2009).

Tanin merupakan polifenol dengan beratmolekul yang sangat besar yaitu lebih dari 1000 g/mol tanaman yang memiliki fungsi untuk mengikat dan mengendapkan protein (Noviyanty *et al*., 2020).



Gambar 2.6 Struktur tannin (Hidjrawan, 2018)

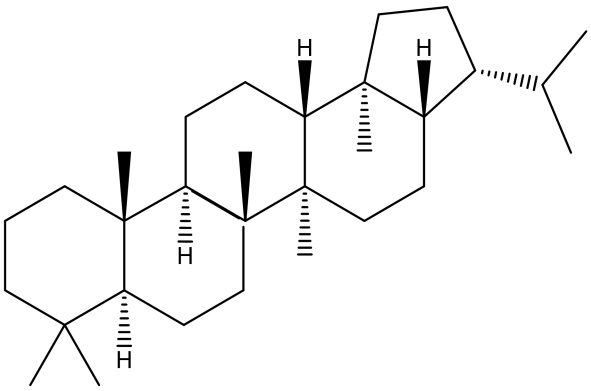
Perubahan warna terjadi ketika penambahan FeCl3 yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin, penambahan FeCl3 pada ekstrak uji menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan mengandung senyawa tanin (Dewi *et al*., 2013).

2.5.5 Triterpenoid dan Steroid

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 C5 dan diturunkan dari hidrokarbon C30 asiklik, yaitu skualena (Balafif, 2013).

Terpenoid merupakan komponen utama dalam minyak atsiri dari tumbuhan atau bunga. Karakteristik dari senyawa terpenoid yaitu sebagian tidak memiliki warna, berbentuk cair dan memiliki bau, memiliki berat jenis yang ringan dibandingkan air, mudah menguap karena uap air panas. Memiliki kelarutan dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Terpenoid memiliki struktur alil siklik, dan sebagian adalah senyawa tak jenuh. Selain itu senyawa ini

mudah mengalami reaksi polimerisasi, dehidrogenasi, dan mudah teroksidasi oleh agen pengoksidasi. Berikut adalah salah satu gambar senyawa terpenoid (Julianto, 2019):



Gambar 2.7 Struktur Terpenoid

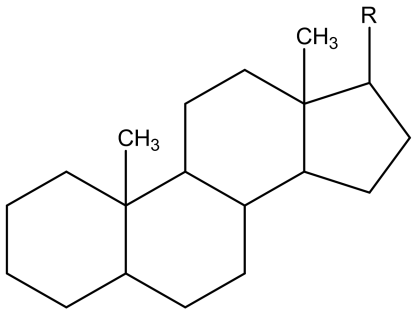
Terpenoid keberadaannya didasarkan pada kemampuan senyawa untuk membentuk warna dengan H2SO4 pekat dalam pelarut asam asetat anhidrat. Hasil positif terpenoid pada ekstrak ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan. Perubahan warna ini disebabkan karena terjadinya reaksi oksidasi pada golongan terpenoid/steroid melalui pembentukkan ikatan rangkap terkonjugasi (Dewi *et al*., 2013; Tomahayu, 2014).

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

Sedangkan steroid adalah senyawa organik golongan lipid yang merupakan hasil turunan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanolperhidrofenantrena, memiliki inti 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin

siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana (Poedjiadi & Supriyanti, 2009).

Senyawa steroid merupakan kelompok bahan alam dimana strukturnya terdiri dari 17 karbon yang membentuk 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 (Erdarini, 2016).



Gambar 2.8 Struktur Steroid

2.6 Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer inframerah ialah salah satu jenis spektrofotometer yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan materi. Spektrofotometer FTIR digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa kimia (Day & Underwood, 1986). Spektroskopi FTIR

didasarkan pada getaran ikatan molekul dengan serapan energi cahaya inframerah jarak medium (4000–400 cm -1) (Taha *et al*., 2013). Vibrasi molekul akan memberikan peak pada bilangan gelombang dan intensitas tertentu pada setiap gugus molekulnya (Pramitania, 2019). Identifikasi menggunakan FT-IR hanya akan memberikan informasi mengenai gugus fungsi berdasarkan panjang gelombang, bentuk pita, dan intensitas (Anggraini, 2018).

Prinsip kerja spektroskopi inframerah adalah sinar inframerah dilewatkan melalui suatu cuplikan senyawa organik sehingga terjadi interaksi antara sampel dengan energi dari sinar inframerah. Sejumlah frekuensi akan diserap sedangkan frekuensi yang lain akan diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Frekuensi yang terserap akan muncul sebagai penurunan signal yang terdeteksi. Informasi tersebut ditampilkan sebagai spectrum radiasi antara % transmitan dan bilangan gelombang (Masrihanah, 2020). Fungsi utama dari spektroskopi inframerah adalah mengidentifikasi gugus fungsi suatu senyawa organik berdasarkan spectrum khas pada daerah inframerah. Vibrasi gugus fungsi suatu senyawa dapat terjadi pada bilangan gelombang 2,5-15 μm (4000-650 cm-1) yang merupakan bilangan gelombang spektrofotometer inframerah. Ikatan yang berbeda menghasilkan vibrasi yang berbeda sehingga senyawa tertentu akan memiliki karakteristik frekuensi vibrasi sebagai pita serapan berbeda dengan senyawa lainnya.

BAB III
METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Februari 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 merah dan larva udang (*Artemia salina* L.) yang diperoleh di daerah Mojokerto. Bahan yang digunakan yaitu n- heksana, aquades, serbuk Mg, HCl 2 M, HCl 37% $FeCl_3$ 1%, H_2SO_4 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 *ultrasonic 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* L. Uji ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 5 kali untuk masing-masing ekstrak. Konsentrasi larutan uji untuk BSLT yaitu 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm. Adapun 2 variabel dalam penelitian ini, yaitu pada variabel pertama adalah konsentrasi ekstrak n-heksana ada 6 tingkat yaitu C_1: 0, C_2: 50, C_3: 100, C_4: 250, C_5:500, dan C_6: 1000 ppm. Sedangkan untuk variabel kedua adalah lama ekstraksi dengan 3 tingkat waktu yaitu E_1: 10, E_2: 20, dan E_3: 30 menit.

Konsentrasi (ppm)	**Mortalitas ekstrak n-heksana**		
	E_1	**E_2**	**E_3**
C_1	C_1 E_1	C_1 E_2	C_1 E_3
C_2	C_2 E_1	C_2 E_2	C_2 E_3
C_3	C_3 E_1	C_3 E_2	C_3 E_3
C_4	C_4 E_1	C_4 E_2	C_4 E_3
C_5	C_5 E_1	C_5 E_2	C_5 E_3
C_6	C_6 E_1	C_6 E_2	C_6 E_3

Kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah kontrol media (tanpa ekstrak). 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 identifikasi senyawa metabolit sekunder 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 merah
4. Uji toksisitas dengan larva udang
5. Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dengan reagen
6. Identifikasi senyawa metabolit sekunder bekatul beras merah menggunakan FTIR
7. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Bekatul beras merah sebanyak 150 gram diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh dan dibungkus menggunakan alumunium foil. Sampel bekatul yang digunakan dalam penelitian ini ialah bekatul beras merah hasil penggilingan padi.

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 20 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Kemudian 25 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen dan dimasukkan dalam oven pada suhu 105°C selama 15 menit. Sampel kemudian disimpan dalam desikator sekitar 20 menit dan ditimbang, sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven 15 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai berat konstan (Azizah, 2016)

Kadar air = $\frac{b-c}{b-a}\ x\ 100\ \%$ **.....……... (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 Merah

Dimasukkan sampel yang sudah di ayak sebanyak 25 gram dan pelarut n-heksana sebanyak 125 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 ultrasonik bath dengan frekuensi 20 kHz pada suhu ruang. 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 eksktrak tersebut ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan (3.2) (Djaeni, 2019).

$$\%\, rendemen = \frac{berat\ eksrak}{berat\ sampel}\ x\ 100\% \quad \textbf{(3.2)}$$

Ekstrak bekatul kemudian dimasukkan ke dalam botol ekstrak dan dilakukan beberapa uji yang meliputi uji toksisitas terhadap *Artemia salina* L., 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 100 mg dan dilarutkan menggunakan pelarutnya masing-masing sebanyak 10 mL. Larutan yang diperoleh selanjutnya dipipet masing-masing sebanyak 50, 100, 250, 500 dan 1000 µL kemudian dimasukkan ke dalam botol vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Selanjutnya dimasukkan 100 µL 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 50, 100, 250, 500 dan 1000 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 µL dimetil sulfoksida (DMSO), setetes larutan ragi roti, 2 mL air laut, kemudian dikocok. Larutan dipindahkan ke 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).

$$\%\, mortalitas = \frac{kematian}{jumlah\ larva\ uji\ (\ 10\ ekor)}\ x\ 100\% \quad \textbf{.....(3.3)}$$

Mortalitas = % Mortalitas x Jumlah keseluruhan larva **.....…….....…....(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 Flavonoid

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.

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, lalu di ditambahkan aquades sebanyak 10 mL, selanjutnya di kocok kuat dengan waktu kurang lebih 10 menit. Ditesteskan 2 – 3 tetes HCl 1 N (Febryana, 2020). Jika terbentuk busa dengan ketinggian 1-3 cm selama 10 menit menandakan adanya senyawa saponin (Harborne, 1987).

3.5.5.4 Uji Tanin

Ekstrak kasar bekatul sebanyak 1 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi FeCl3 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 kehitaman (Harborne, 1987).

3.5.6. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Bekatul Beras Merah 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} (Fariestha *et al*., 2018).

3.5.7 Analisis Data

Uji toksisitas menghasilkan data berupa angka kematian dari Larva Udang (*Artemia salina* L.). Hasil dari mortalitas masing-masing ekstrak dihitung menggunakan uji statistik minitab19 untuk mengetahui nilai LC_{50}. Penentuan nilai *Median Lethal Concentration* (LC_{50}) dapat diketahui menggunakan data dari nilai % mortalitas , konsentrasi dan jumlah keseluruhan larva (N). Adapun data yang diperlukan pada minitab 19 dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Mortalitas = % Mortalitas x Jumlah keseluruhan larva……**(3.5)**

Tabel 3.1 Data pengolahan LC_{50} pada minitab

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

Data yang telah dihitung dengan persamaa di atas akan diolah pada minitab 19, berupa nilai konsentrasi, mortalitas dan N (Jumlah keseluruhan larva). Adapun cara pengolahannya yaitu dengan awal klik *stat*, lalu klik *realibility/survival*, kemudian pilih *probit analysis* yaitu sebagai penganalisis yang dapat menduga besarnya dosis efektif melalui penentuan konsentrasi. Kemudian muncul kolom "*number of event*" di isi dengan data mortalitas, kolom "number of trials" di isi dengan data N, dan kolom "stress" diisi dengan nilai kosentrasi, lalu klik estimate, pada bagian "*estimate percentiles for these additional percents*" diisi dengan nilai 50, Kemudian klik OK. Hasil dari LC_{50} dapat dilihat dari percent 50 dan pada grafik dapat dilihat dari nilai *mean.*

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul beras merah (*Oryza nivara*) sebanyak 600 gram yang diperoleh dari Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur. Proses preparasi diawali dengan pengayakan menggunakan ukuran 60 mesh dengan tujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga terjadi kontak antara sampel dan pelarut menjadi besar yang memyebabkan proses ekstraksi berjalan lebih cepat (Tambun *et al*., 2016). Semakin kecil ukuran serbuk maka semakin besar luas permukaan sampel sehingga interaksi antara pelarut dengan sampel akan semakin besar (Banjar, 2008). Selanjutnya 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. Stabilisasi dengan oven meningkatkan umur simpan bekatul dan mencegah kerusakan akibat kerusakan oksidatif. Sampel bekatul beras merah ditunjukkan pada Gambar 4.1

Gambar 4. 1 Sampel bekatul beras merah

4.2 Analisis 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 *et al*, 2017). Berdasarkan hasil pengukuran kadar air sampel bekatul beras merah (Oryza nivara) diperoleh sebesar 1,19% (Lampiran 4.1). Nilai kadar air yang diperoleh telah memenuhi standar Depkes RI tahun 1994 dengan batas maksimum kadar air yang disyaratkan sebesar 10%. Menurut Kumala (2007) semakin kecil kadar air suatu sampel, maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh randemen yang semakin besar.

4.3 Ekstraksi Senyawa Bioaktif Senyawa Bekatul Beras Merah Menggunakan Metode Ultrasonik

Ekstraksi senyawa bioaktif bekatul beras merah 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). Hal ini yang menyebabkan proses ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik menjadi lebih cepat dari metode konvensional dengan cara maserasi maupun esktraksi soxhlet. Medium yang dilewati akan mengalami getaran yang disebabkan oleh gelombang

elektronik. Getaran yang diberikan oleh gelombang ultrasonik akan memberikan pengadukan yang intensif terhadap proses ekstraksi. Proses pengadukan akan meningkatkan osmosis antara bahan dengan pelarut sehingga akan mempercepat proses ekstraksi.

Ekstraksi ultrasonik dilakukan menggunakan pelarut n-heksana dengan variasi waktu 10 menit (E1), 20 menit (E2), dan 30 menit (E3). 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. Filtrat hasil penyaringan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 60°C, suhu yang digunakan lebih rendah dari suhu titik didihnya karena pelarut sudah dapat menguap dengan penurunan tekanan yang dibantu pompa vakum. Ekstrak yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstrak n-heksana bekatul beras merah

Variasi waktu (menit)	Warna Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
10	Hijau tua	1,57	6,28
20	Hijau tua pekat	1,63	6,51
30	Hijau tua pekat	1,75	7,01

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa hasil rendemen tertinggi adalah ekstrak dengan variasi waktu 30 menit yaitu sebesar 7,01%. Sedangkan rendemen ekstraksi waktu 10 dan 20 menit masing-masing sebesar 6,28% dan 6,51%. Proses ekstraksi bekatul beras merah dilakukan selama 10, 20, dan 30 menit menunjukkan rendemen ekstrak bekatul beras merah meningkat seiring

dengan naiknya waktu ekstraksi. Waktu ekstraksi sangat mempengaruhi rendemen, hal ini terkait dengan nilai transfer massa. Lamanya waktu ekstraksi akan mempengaruhi rendemen yang diperoleh. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terekstrak ke dalam pelarut. Hal ini sesuai dengan penelitian Djaeni, (2019) yang mengekstrak bekatul berbantukan ultrasonik dengan pelarut n-heksana dengan variasi waktu, semakin lama waktu ekstraksi maka hasil rendemen yang didapat semakin meningkat yaitu dengan presentase rendemen sebesar 11.34%. Berdasarkan penelitian lain, semakin lama waktu ekstraksi maka rendemen yang didapatkan semakin meningkat (Yuswi, 2017). 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.

a b c

Gambar 4. 2 Hasil ekstraksi variasi waktu (a) 10 menit (E1), (b) 20 menit (E2), (c) 30 menit (E3)

4.4 Uji Toksisitas Bekatul Beras Merah

4.4.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* L.

Penetasan telur dilakukan dengan cara memasukkan ± 100 mg telur *Artemia salina* L. ke dalam wadah yang sudah terisi air laut serta diaerasi selama 48 jam untuk memenuhi kebutuhan oksigen. Selama penetasan disiapkan penerangan lampu, dengan adanya cahaya tersebut telur yang sudah menetas akan menghampiri cahaya karena bersifat fototropik. Untuk memenuhi kebutuhan makanan diberikan larutan ragi (fermipan). Larva yang digunakan untuk uji toksisitas adalah saat larva udang dalam bentuk nauplii aktif yang berumur 48 jam. Pada fase ini organ-organ *Artemia salina L*. yang terbentuk sudah lengkap, salah satunya mulut sehingga dapat meminum air laut yang berisi sampel uji. Selain itu, Muaja *et al*., (2013) menunjukkan bahwa usia yang paling sensitif untuk sebagian besar senyawa diuji adalah naupli usia 48 jam.

4.4.2 Uji Toksisitas

Uji toksisitas ekstrak n-heksana bekatul beras merah dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode ini merupakan metode awal untuk mengetahui berbagai bioaktivitas dari suatu sampel menggunakan larva udang *Artemia salina* L. sebagai hewan uji coba. Metode ini bertujuan untuk mengetahui sifat toksik senyawa yang ditandai dengan kematian larva udang. Hasil uji toksisitas ekstrak n-heksana bekatul beras merah dinyatakan dengan nilai LC_{50} (*Median Lethal Concentration*). LC_{50} merupakan suatu jumlah konsentrasi optimum dimana organisme dalam suatu perlakuan dapat terbunuh sebanyak 50%. Nilai LC_{50} dapat diperoleh melalui metode probit analysis menggunakan data yang dianalisa melalui komputer.

Langkah awal 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. Selain itu, dapat meminimalisir kesalahan dalam pembuatan larutan uji dengan konsentrasi yang lebih kecil. Setelah itu dibuat larutan uji dengan beberapa konsentrasi yaitu 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm kemudian diuapkan pelarutnya. Tujuan dari penguapan yaitu agar larva udang yang mati tidak disebabakan karena pelarut melainkan ekstraknya.

Selanjutnya ditambahkan DMSO, ragi roti dan air laut. Fungsi penambahan DMSO ialah sebagai surfaktan yang dapat melarutkan ekstrak dalam air laut. DMSO terdiri dari ikatan S=O yang mempunyai sifat polar dan dua alkil CH_3 memiliki sifat non polar. Sedangkan gugus S=O akan berinteraksi dengan senyawa polar, dan gugus CH_3 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. Larva udang yang mati ditandai dengan tidak bergeraknya larva udang dan keberadaannya berada di dasar vial. Kematian larva dilihat dari nilai yang sering muncul (modus).

Kontrol yang digunakan adalah kontrol pelarut dan kontrol DMSO. Penggunaan kontrol dilakukan untuk memastikan bahwa kematian larva benar-benar disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak. Hasil uji toksisitas dari ekstrak n-heksana ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Berdasarkan hasil uji toksisitas ekstrak n-heksana bekatul beras merah (Lampiran 4.4.4), dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, tingkat kematian larva udang juga semakin besar. Mortalitas larva udang juga menerangkan jumlah total kematian untuk tiap konsentrasi dalam 5 kali ulangan yang dilakukan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Harborne (1997) semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka sifat toksiknya semakin tinggi. Kematian hewan uji juga dipengaruhi oleh jenis ekstrak serta komponen yang terkandung dalam ekstrak.

Hasil dari modus dan mortalitas masing-masing ekstrak (Lampiran 4.4.4) dihitung menggunakan uji statistik minitab 19 untuk mengetahui nilai LC_{50} pada masing-masing ekstrak bekatul beras merah. Nilai LC_{50} ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Nilai LC_{50} ekstrak n-heksana bekatul beras merah

Ekstrak Bekatul Beras Merah	Nilai LC_{50} (ppm)
E1	485,87
E2	224,20
E3	213,00

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

Hasil yang diperoleh pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa nilai LC_{50} pada E3 sebesar 213,00 ppm cenderung lebih rendah dibandingkan dengan nilai LC_{50} pada E2 dan E1 dengan nilai 224,20 ppm dan 485,87 ppm. Menurut Mayer *et al*. (1982) suatu ekstrak menunjukkan aktivitas ketoksikan dalam BSLT, jika ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm. Hal tersebut dapat berarti bahwa pada ekstrak n-heksana bekatul beras merah dengan konsentrasi 213,00 ppm, 224,20 ppm dan 485,87 ppm dapat

menyebabkan kematian terhadap 50% hewan uji yaitu *Artemia salina* L. Dari nilai LC_{50} tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak n-heksana bekatul beras merah bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L. karena memiliki nilai LC_{50} < 1000 ppm.

Waktu ekstraksi mempengaruhi nilai rendemen, karena berkaitan dengan nilai transfer massa. Penambahan waktu ekstraksi mengakibatkan penambahan jumlah rendemen yang dihasilkan. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terekstrak ke dalam pelarut, diduga beberapa senyawa tersebut dapat bersifat toksik. Sehingga dapat berpengaruh pada perbedaan nilai LC_{50} pada setiap esktrak.

Metabolit sekunder memiliki gugus-gugus yang dapat memecah ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan ikatan garam pada protein integral di membran sel larva, sehingga menyebabkan denaturasi protein. Gugus tersebut dapat berupa karbonil, hidroksil, karboksil, sulfhidril dan amino. Denaturasi protein menyebabkan hilangnya aktivitas pada senyawa protein (Triyono, 2010). Oleh karena itu, denaturasi yang terjadi pada protein integral di membran sel larva menyebabkan transpor aktif ion Na+ /K+ terganggu sehingga proses pemasukan ion Na+ dan pengeluaran ion K+ menjadi tidak terkendali, hal ini menyebabkan pembengkakan sel dan akhirnya pecah. Pecahnya sel inilah yang dapat menyebabkan larva udang mati (Nurhayati *et al*., 2006).

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 nilai LC_{50} yang dihasilkan pada penelitian Jannah (2020) lebih besar dibandingkan penelitian ini.

Hal ini disebabkan adanya perbedaan waktu pada ekstraksi. Pada ekstrak *n*-heksana bekatul beras merah nilai LC_{50} semakin kecil seiring dengan pertambahan waktu ekstraksi, hal ini menandakan bahwa waktu ekstraksi berpengaruh terhadap senyawa bioaktif yang terekstrak. Adapun juga sampel yang digunakan memiliki perbedaan jenis bekatul, habitat, nutrisi tanah, dan umur dari tumbuhan. Habitat, dan nutrisi tanah dapat mempengaruhi kandungan dari suatu metabolit pada tumbuhan tersebut (Alfarabi & Widyadhari, 2018).

Hasil pengujian toksisitas dari ekstrak n-heksana bekatul beras merah dari ekstraksi ultrasonik bersifat toksik karena $LC_{50} < 1000$ ppm. Menurut Carballo *et al* (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} 200 ppm – 500 ppm bersifat toksik sedang (Mungenge *et al*., 2014). 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. Dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak bekatul beras merah. Pengujian yang dilakukan meliputi senyawa alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, triterpenoid dan steroid. Hasil uji fitokimia ekstrak bekatul beras merah dapat diamati pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil uji fitokimia ekstrak bekatul beras merah

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

Keterangan: + = terdapat senyawa
- = tidak terdapat senyawa

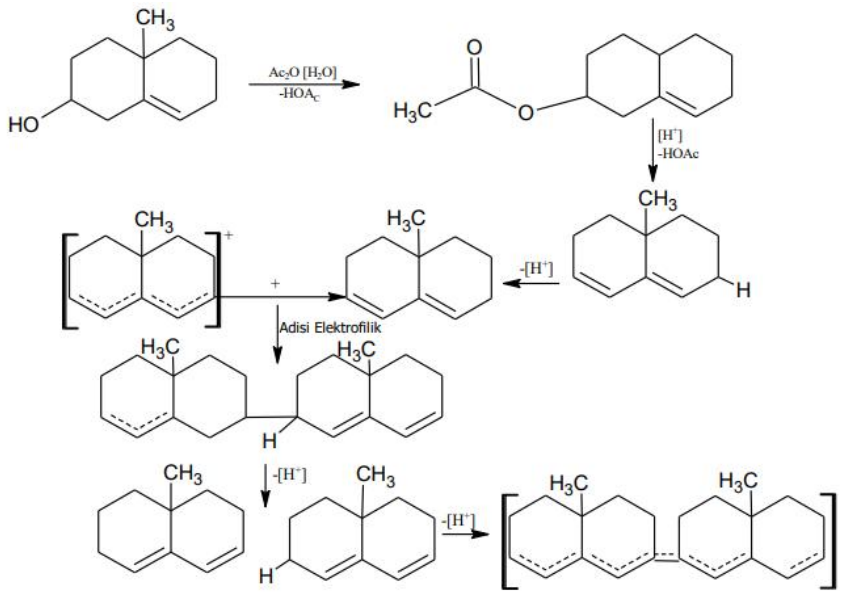
4.5.1 Triterpenoid

Metode Lieberman-Buchard dilakukan untuk mengetahui kandungan triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak bekatul beras merah. Ekstrak yang mengandung senyawa triterpenoid akan menghasilkan cincin kecoklatan (Harborne, 1987). Reagen Lieberman Buchard dapat dibuat dengan menambahkan kloroform sebagai pelarut yang tidak mengandung air, asam asetat anhidrat yang berperan dalam proses asetilasi gugus hidroksil dan membentuk turunan asetil, dan asam sulfat pekat yang berfungsi untuk mendehidrasi senyawa steroid dan membentuk garam kolestadiene yang terkonjugasi dan menghasilkan warna hijau. Penambahan kloroform berfungsi untuk melarutkan senyawa steroid yang terkandung dalam sampel, sedangkan asam asetat anhidrat untuk membentuk gugus asetil (Alfiyaturrohmah, 2013).

Pengujian senyawa triterpenoid dilakukan dengan mengambil sedikit ekstrak n-heksana bekatul beras merah kemudian ditambahkan klorofom, asam asetat anhidrat dan asam sulfat (reagen Liebermann Burchard). Hasil uji yang telah dilakukan ekstrak n-heksana bekatul beras merah positif mengandung

senyawa triterpenoid yang ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan pada perbatasan dua pelarut saat ditambah H_2SO_4. Perubahan warna ini terjadi karena adanya reaksi oksidasi pada golongan senyawa triterpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi yang menghasilkan gugus kromofor. Hal ini disebabkan oleh adanya reaksi kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation. Beberapa triterpenoid spesifik yang terdapat ada bekatul antara lain gamma oryzanol yang dikenal dengan sifat antioksidannya (Faizah, 2020).

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Moko (2014) dan Jannah (2020) bahwa pengujian fitokimia ekstrak bekatul menghasilkan senyawa triterpenoid. Menurut Fidiyani (2015) senyawa triterpenoid tergolong nonpolar, biasanya senyawa non polar akan akan tertarik oleh pelarut non-polar (*like dissolved like*). Dugaan reaksi pada senyawa triterpenoid pada Gambar 4.3.

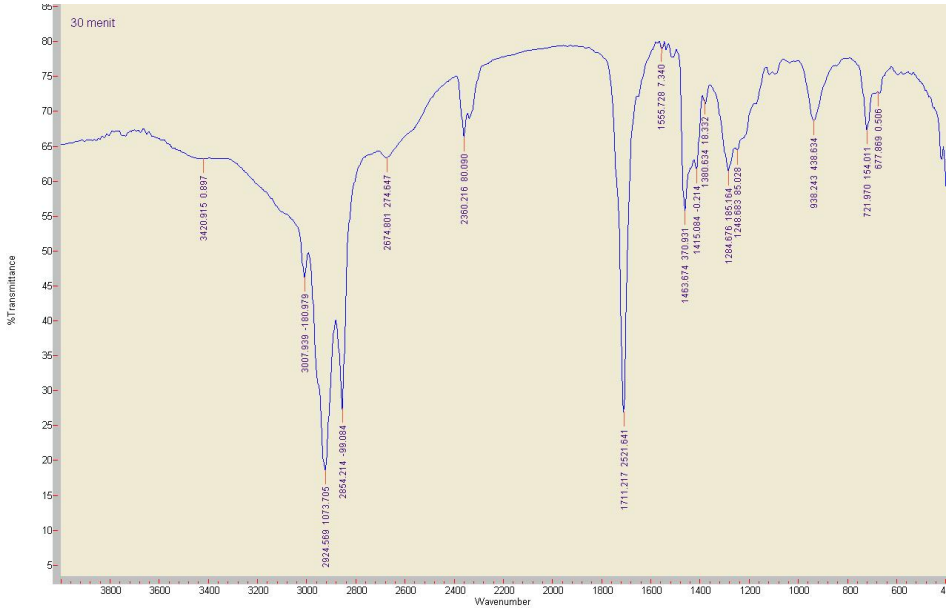


Gambar 4. 3 Dugaan reaksi yang terjadi pada senyawa triterpenoid (Nugrahani *et al*., 2016)

Mekanisme terjadinya reaksi pada triterpenoid dimulai dari pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya cincin kecoklatan (Nugrahani *et al*., 2016).

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 merah. 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 merah

Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan gugus fungsi yang terdapat pada ekstrak bekatul beras merah (E3) memiliki serapan melebar pada 3420,91 cm $^{-1}$ yang diduga adalah serapan ulur dari gugus OH dan diperkuat vibrasi tekuk alkohol primer pada bilangan gelombang 938,24 cm $^{-1}$. Serapan pada bilangan gelombang 3007,93 cm $^{-1}$ diduga adalah serapan serapan ulur dari C-H sp^2, diperkuat dengan adanya vibrasi pada panjang gelombang 1555,72 cm $^{-1}$ dan didukung adanya C-H sp^2 bending aromatik pada bilangan gelombang 721,97 cm^{-1}. Serapan pada 2924,56 cm $^{-1}$dan 2854,21 cm $^{-1}$ diduga CH_3 dan CH_2 alifatik. Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi 1463,67 cm $^{-1}$ dan 1380,63 cm $^{-1}$. 1711,21 cm $^{-1}$ merupakan serapan gugus C=O ulur. Adapun hasil interpretasi spektra FTIR ekstrak bekatul beras merah dapat dilihat pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Interpretasi spektra FTIR ekstrak bekatul beras merah

Bilangan Gelombang (cm^{-1})		Gugus Fungsi
Ekstrak n-Heksana (E3)	Pustaka	
3420,91	3500 – 3300[a]	-OH *stretching*
3007,93	3050-3150[a]	C-H sp^2 aromatik
2924,56	3000 – 2800[a]	$-CH_3$ *Stretch asym*
2854,21	2870 – 2840 [a]	CH_2 *Stretching sym acyclic*
2360,21	2400-2100 [b]	-C≡C stretch
1711,21	1850 – 1550[a]	C=O *stretch*
-	1690 – 1620[a]	C=C *stretch*
1555,72	1625 – 1430[a]	C=C *aromatic bending*
1463,67	1480 – 1440[a]	C-H pada CH_2 *(bending) asym*
1380,63	1395 – 1365[a]	C-H pada CH_3 *(bending) sym*
1248,68	1260-1180 [a]	C-O *stretch*
-	~1050[a]	Primary alkohol, C-O stretch
721,97	900 – 650[a]	C-H sp^2 *bending aromatik*
677,86	900 – 675[a]	=C-H *bending*

Keterangan : a = Socrates, 1994; b = Dachriyanus, 2004

Hasil uji fitokimia pada bekatul beras merah n-Heksana (E3) menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang mengandung senyawa triterpenoid. Dugaan adanya senyawa triterpenoid ditunjukkan dengan adanya serapan pada gugus -OH, C=O, C=C dan Geminal Dimetil. Hal ini diperkuat dengan literatur, menurut Sari *et al*., (2015), sarapan khas senyawa triterpenoid adanya gugus OH pada bilangan gelombang (3420,91 cm^{-1}), geminal dimetil pada bilangan gelombang (1380,63 cm^{-1}), gugus C=O (1711,21 cm^{-1}), dan C=C (1555,72 cm^{-1}).

Berdasarkan hasil FTIR diatas menunjukan adanya senyawa triterpenoid yang didapat dari uji toksisitas terbaik ekstrak n-heksana bekatul beras merah

dengan waktu ekstraksi 30 menit yang memiliki nilai LC_{50} sebesar 213,004 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L. dan dapat dimanfaatkan sebagai pestisida. 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 tertentu tanpa terkecuali termasuk tumbuhan.

Banyaknya tumbuhan yang diciptakan Allah Swt. di bumi membuktikan bahwa kekuasaan Allah Swt. sangat sempurna. Sebagaimana dalam firman Allah Swt. dalam Al-Qur'an Surah Thaha ayat 53:

الَّذِيْ جَعَلَ لَكُمُ الْاَرْضَ مَهْدًا وَّسَلَكَ لَكُمْ فِيْهَا سُبُلًا وَّاَنْزَلَ مِنَ السَّمَآءِ مَآءًۗ فَاَخْرَجْنَا بِهٖٓ اَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتّٰى

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."

Tafsiran Ayat di atas adalah "Allah menurunkan air dari langit, maka kami tumbuhkan dengannya berjenis-jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam- macam" merupakan bagian dari hidayah Allah Swt. kepada manusia dan binatang guna memanfaatkan buah-buahan dan tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan bagi kelanjutan hidupnya, sebagaimana terdapat pula isyarat bahwa Allah Swt. memberi hidayah kepada langit guna menurunkan hujan agar turun tercurah, dan untuk tumbuh-tumbuhan agar tumbuh berkembang. Juga dalam firman-Nya "Dia yang telah menjadikan bagi kamu bumi sebagai hamparan". Terjemahan ayat tersebut bertujuan mengisyaratkan bahwa penumbuhan aneka tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasanya itu merupakan hal-hal yang sungguh

menakjubkan lagi membuktikan betapa agung penciptaan-Nya (Shihab, 2002). Salah satu tanaman tersebut adalah bekatul beras merah yang dapat dimanfaatkan sebagai obat. Pemanfaatan obat dari bekatul beras merah sesuai firman Allah dalam Q.S asy Syu'ara ayat 7:

اَوَلَمْ يَرَوْا اِلَى الْاَرْضِ كَمْ اَنْۢبَتْنَا فِيْهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ

Artinya:

"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?"

Pada ayat diatas, menurut tafsir Al Qurthubi ada tiga kata yang ditekankan yaitu kata يَرَوْا yang artinya memperhatikan, زَوْجٍ yang artinya tumbuh-tumbuhan dan كَرِيْمٍ yang artinya baik dan mulia. Dalam ayat tersebut kita sebagai manusia diperintahkan untuk memperhatikan tumbuh-tumbuhan yang baik dan mulia yang telah Allah tumbuhkan di bumi ini. Tumbuh-tumbuhan yang baik dapat diartikan tumbuhan yang memiliki berbagai manfaat di dalamnya. Sebagaimana tumbuhan yang baik adalah yang memiliki manfaat, salah satunya yaitu dapat digunakan sebagai obat penyembuh penyakit. Seperti halnya bekatul beras merah yang dapat dimanfaatkan karena dapat mereduksi kerusakan oksidatif akibat dari penyakit kardiovaskular, diabetes militus, antioksidan, antiflamasi serta dapat dimanfaatkan sebagai suplemen pangan untuk meningkatkan kualitas kesehatan manusia.

Ayat tersebut juga dapat mengingatkan kita untuk mencari pengobatan dan perawatan yang tepat, dengan mengandalkan Allah sebagai Penyembuh yang

sebenarnya. Segala penyakit pasti ada obatnya, bagi mereka yang mau mencari. 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 penomena alam untuk mendapatkan dan memperkembangakan suatu ide. Sedangkan manusia diperintahkan untuk memikirkan apa saja yang ada dilangit dan di bumi. Sebagaimana Allah Swt. berfirman dalam al-Qur'an surat al-Kahf ayat 30:

اِنَّ الَّذِيْنَ اٰمَنُوْا وَعَمِلُوا الصّٰلِحٰتِ اِنَّا لَا نُضِيْعُ اَجْرَ مَنْ اَحْسَنَ عَمَلًاۗ

Artinya:

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

Menurut tafsir Al-Misbah, menjelaskan bahwa ganjaran orang-orang yang beriman kepada Allah dan Rasul-Nya serta membuktikannya dengan amal saleh. Pahala amal mereka tidak akan disia-siakan, sebagai balasannya Allah Swt. telah menyiapkan surga '*Adn* (Shihab, 2002). Penelitian ini merupakan bentuk amalan saleh karena dapat menghadirkan ilmu pengetahuan dan teknologi yang bermanfaat. Sebagaimana dalam tafsir Al-Misbah, Syeikh Muhammad 'Abduh mendefinisikan amal saleh sebagai, "Segala perbuatan yang berguna bagi pribadi, keluarga kelompok, dan manusia secara keseluruhan.

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Hasil uji toksisitas bekatul beras merah dengan variasi lama ekstraksi ultrasonik 10, 20, dan 30 menit masing-masing memiliki nilai LC_{50} 485,87 ppm; LC_{50} 224,20 ppm dan LC_{50} 213,00 ppm.
2. Hasil yang diperoleh dari karakterisasi FTIR pada ekstrak bekatul beras merah yang terbaik menunjukkan adanya beberapa gugus, antara lain -OH (3420,91 cm^{-1}), C=O (1711,21 cm^{-1}), C=C (1555,72 cm^{-1}) dan Geminal Dimetil (1380,63 cm^{-1}).

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 merah metode ultrasonik dapat menggunakan GC-MS 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 merah.

DAFTAR PUSTAKA

Adhiksana, A. (2017). Perbandingan Metode Konvensional. *Journal of Research and Technology*, 3(2).

Alfaridz, F., dan Amalia, R. 2016. Review Jurnal : Klasifikasi Dan Aktivasi Farmakologi Dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka* Vol. 16 No. 3, 1- 9.

Alfiyaturohmah. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Kloroform Dan N-Heksana Alga Coklat Sargassum Vulgare Asal Pantai Kapong Pamekasan Terhadap Bakteri Staphilococcus aureus dan Eschericia coli. ALCHEMY, Vol. 2 No. 2 Maret 2013, hal 101 - 149

Anggraini, V. 2018. Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Dengan Variasi Gradien Eluen Fraksi Etil Asetat Makroalga (*Euchema cottoni*). *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

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.

Astawan, M. 2009. *Bekatul, Gizinya Kaya Bekatul*

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

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

Cahyanine, M., Estiasih, E., dan Nisak, F.C. 2008. Fraksi Kaya Tokoferol dari Bekatul Beras dengan Teknik Rekristalisasi Pelarut Suhu Rendah. *Jurnal Teknologi Pertanian.* 9 (3): 165-172

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 Biotecnology* 2 (17): 1-5

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

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

Dachriyanus. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spekstroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.

Dai, J., dan Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their

Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*. Volume 15, Nomor 10.

Day, .R..,& Underwood, A. (1986). *Analisis Kuantitatif (Terjemahan Putjaatmaka,A.H.)*. Erlangga.

Devi, R.R. dan C. Arumughan. 2006. Phytochemical characterization of defatted rice bran and optimization of a process for their extraction and enrichment. *Bioresource Technology*. 98: 3037-3043.

Dewi, I.D.A.D.Y., Astuti, K.W.1, Warditiani, N.K. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis *(Garcinia mangostana L.). Skripsi.* Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Bali.

Djaeni, 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.

Faizah, F., Kusnandar, F. and Nurjanah, S., 2020. Senyawa fenolik, oryzanol, dan aktivitas antioksidan bekatul yang difermentasi dengan Rhizopus oryzae. *Jurnal Teknologi dan industri pangan*, 31(1), pp.86-94.

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.

Febryana, S. F. A. (2020). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun dan Buah Jambu Biji Ungu (*Psidium guajava L.*) Menggunakan Pelarut yang Berbeda. *SKRIPSI*, Malang(UIN Maulana Malik Ibrahim Malang).

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

Fuadi, A. 2012. Ultrasonik Sebagai Alat Bantu Ekstraksi Oleoresin Jahe. *Jurnal Teknologi*, 12(1): 14-21.

Gajardo, G. M., & Beardmore, J. A. (2012). The brine shrimp Artemia: Adapted to critical life conditions. *Frontiers in Physiology*, 3 JUN(June).

Ganong, W. F., & Barrett, K. E. (2012). Ganong's Review of Medical Physiology Twenty Fourth Edition. *In Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (Vol. 90, Issue 2).

Guenther, E. (1987). *Minyak Atsiri. Jilid 1*. PRESS, UI.

Gunawan, H. D. 2018. Penurunan Senyawa Saponin Pada Gel Lidah Buaya Dengan Perebusan dan Pengukusan. *Jurnal Teknologi Pangan*, 9(1): 41-44.

Handaratri, A., dan Yuniati, Y. 2019. Kajian Ekstraksi Antosianin dari Buah Murbei dengan Metode Sonikasi dan Microwave. *Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*. Volume 4, Nomor 1: 63-67.

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.

Hidjrawan, Y., 2018, Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.), Jurnal Optimalisasi, Vol. 4, No. 2, hal 78-82

Hindryawati, N. 2020. *Fotokatalis dalam Pengolahan Limbah Tekstil*. Yogyakarta: DEEPUBLISH.

Ince, A. E., Sahin, S., Sumnu, S. G. 2012. Extraction of Phenolic Compounds from Melissa Using Microwave and Ultrasound. *Turkish Jurnal of Agriculture and Forestry* 37, 69-75.

Jannah, et al. 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, A. 2015. Uji Toksisitas Fraksi Polar dan Non Polar Ekstrak Rimpang Dringo (Acorus calamus L.) Terhadap Hypothenemus hampai (Ferr.). *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jember.

Julianto, S. T. 2019. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: UII Press.

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

Khasanah, N. F. (2018). Uji Toksisitas Senyawa Aktif Fraksi n-Heksana, Klorofom, dan n-Butanol Hydrilla verticilatta 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.

Kristanti, A. F., Nanik, S. A., Mulyadi, T., Yusamsutin, Azizah, dan Dahlia, S. M. 2006. Isolasi Senyawa Antrakuinon dari *Cassia multijuga* (*Leguminosae*). *Jurnal Kimia Indonesia* (Vol. 1 No. 1): hal. 17-21.

Kuldiloke, J. (2002). Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity andQuality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. *In International Review of Social History* (Vol. 47, Issue 3). https://doi.org/10.1017/s0020859002000871

Latifah, U. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut dan Suhu Terhadap Ekstrak Minyak Bekatul Padi *(Oryza Sativa). Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

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 Penelitia Kesehatan,* 32(3), 111–118.

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

Marliana, S.d., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule*) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1): 26-31.

Mas'ud F., dan Pabbenteng. 2016. Rasio Bekatul Padi dengan Pelarut pada Ekstraksi Minyak bekatul Padi. *Journal INTEK*. 392): 82-86.

Masrihanah, A. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ultrasonik Air, Metanol, Etanol, Etil Asetat dan Petroleum Eter Daun Katuk (*Sauropus androgynus L.Merr)*. *SKRIPSI*.

Mawwadah. (2019). Uji Toksisitas Isolat Steroid Hasil Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana *Hydrilla verticillata. SKRIPSI*, Malang (UIN Maulana Malik Ibrahim Malang), 1–9.

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

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

Most, M. M., Tullet, R., M. Silvia, Lefevre., dan Michael. 2005. Rice Bran Oil, Not Fiber, Lower Cholestrol in Humans 1-3. *American Journal Clinical Nutrition*. Vol. 81: 64-8.

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. https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3000

Mudjiman. (1995). *Makanan Ikan*. PT. Penerbit Swadaya.

Mungenge, C., Zimudzi, C., Zimba, M. & Nhiwatiwa, T. (2014). Phytochemical screening, cytotoxicity and insecticidal activity of the fish poison plant Synaptolepis alternifolia oliv. (Thymelaeaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 15–19.

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*

Noviyanty, Y., Hepiyansori, & Agustian, Y. (2020). Identifikasi dan penetapan kadar senyawa tanin pada kstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) metode spekktrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, *6*(1), 57–64.

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). https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.38

Nurhayati N, Abdulgani R, Febrianto (2006) *Uji toksisitas ekstrak Alvaresii terhadap Artemia salina Leach. sebagai studi pendahuluan potensi anti kanker.* Program Studi Biologi FMIPA Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya

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.

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

Panjaitan. 2011. Uji Toksisitas Akut Esktrak Kulit Batang Pulasari (alyxiae cortex) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Darma

Poedjiadi, A., & Supriyanti, F. . T. (2009). *Dasar-Dasar Biokimia*. UI Press.

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.

Pramitania, V.A., 2019. *Uji toksisitas isolat steroid hasil kromatografi kolom fraksi n-Heksana Alga Merah (Eucheuma cottonii) dari Perairan Wongsorejo Banyuwangi* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

Rahmah, F. T. (2018). Uji Toksisias 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

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

Rosyidah, K., Rizki, M. A., Astuti, M. D., dan Rodiansono. 2020. Toxicity Of N-Hexane Extract Of Mundar (Garcinia Forbesii King) Pericarp. Bio Web Of Conferences, 20, 03004.

Sadly, Wahyu, N., Sari, I., Farmasi, J., Mipa, F., Kuala, U. S., & Aceh, D. B.(2015). The Cytotoxic Activity of Ethylacetatefraction of Kersen (*Muntingia Calabura*) Leaves Against Larvae *Shrimp Artemia Salina Leach*. *Jurnal Natural Unsyiah*, 15(2), 115668.

Safitri, E. W. (2018). Optimasi Variasi Pelarut dan Variasi Lama Ekstraksi Ultrasonik Senyawa Aktif Alkaloid pada Tanaman Anting-Anting *(Acalypha indica L.)* serta Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *SKRIPSI*..

Sangi. M., Runtuwene. M. R. J., Simbala. H. E. I., Makang. V. M. A. 2008. *Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten Minahasa Utara*. Chem. Prog.1(1),

Saragih, D. E., & Arsita, E. V. (2019). Kandungan fitokimia Zanthoxylum

acanthopodium dan potensinya sebagai tanaman obat di wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, *5*(1), 71–76. https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050114

Sari, P. puspita, Susanah Rita, W., & Puspawati, N. (2015). Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin Dari Ekstrak Daun Trembesi (S*amanea Saman (Jacq.) Merr*) Sebagai Antibakteri *Escherichia Coli (E. Col*i). *Jurnal Kimia*, *9*(1), 27–34.

Seekhaw, P., Mahatheeranont, S., Sookwong, P., Luangkamin, S., Neonplab, A.N.L. and Puangsombat, P., 2018. Phytochemical constituents of Thai dark purple glutinous rice bran extract [cultivar LuemPua (*Oryza sativa L.*)]. *Chiang Mai J*. Sci, 45, pp.1383-1395.

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

Socrates. (1994). *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts Second Edition*. John Wiley and Sons Inc.

Solis, P.N., Wright, C.W., Anderson, M.M., Gupta. M.F. & Philipson, J.D. 1993. *A Microwell Cytotoxicity Assay Using Artemia Salina (Brine Shrimp)*. Planta Medica.

Srikaeo, K. (2014). Organic Rice Bran Oils in Health. Wheat and Rice in Disease Prevention and Health. *Elsevier*. https://doi.org/10.1016/B978-0-12- 401716-0.00035-0

Suprijana, O., Hidayat., Ace, T., Soedanaatmadja., dan Ukun. MS. 2002. Bekatul Padi Sebagai Sumber Produksi Minyak dan Isolar Protein. *Jurnal Bionatura*. 4 92), pp.61-68

Suryadinata, A., 2015. Oil Extraction from Rice Bran with Various Solvents and Concentration of Crude Extract to Antioxidant Activity. *ALCHEMY*: Journal of Chemistry, 4(1), pp.25-31.

Susanti, A.D., Ardiana, D. and Gumelar P, G., 2012. Polaritas pelarut sebagai pertimbangan dalam pemilihan pelarut untuk ekstraksi minyak bekatul dari bekatul varietas ketan (Oriza sativa glatinosa). *Simposium Nasional* RAPI XI FT UMS-2012.

Syahara, S., & Siregar, Y. F. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura)*. *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia*, *4*(2), 121–125.

Taha, M., Hassan, M., Essa, S., & Tartor, Y. (2013). Use of *Fourier transform infrared spectroscopy* (FTIR) spectroscopy for rapid and accurate identification of Yeasts isolated from human and animals. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, *1*(1), 15–20.

Tambun, R., Limbong, H. P., Pinem, C., & Manurung, E. (2016). Influence of Particle Size , Time and Temperature To Extract Phenol From Galangal. *Teknik Kimia Universitas Sumatera Utara*, *5*(4), 53–56.

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).

Taurita, M., Z., Sadek N., F. Sukarno., Yuliana, N.D. 2017. Pengembangan Bekatul Sebagai Pangan Fungsional: Peluang Hambatan, dan Tantangan. *Ilmu dan Teknologi Pangan*. IPB.

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

Walter, M. dan E. Marchesan. 2011. *Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Rice*. J. Braz. Arch. Biol. Technol., 54 (2), 371-377.

Wang, T. yang, Li, Q., & Bi, K. shun. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *13*(1), 12–23.

WANTI, S., Andriani, M.A.M. and PARNANTO, N.H.R., 2015. Pengaruh berbagai jenis beras terhadap aktivitas antioksidan pada angkak oleh Monascus purpureus. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 13(1), pp.1-5.

Widyasanti, A., Nurlaily, N., Wulandari, E. 2008. Karakteristik Fisikokimia Antosianin Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Menggunakan Metode UAE. *Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biositem,* 6(1): 27-38.

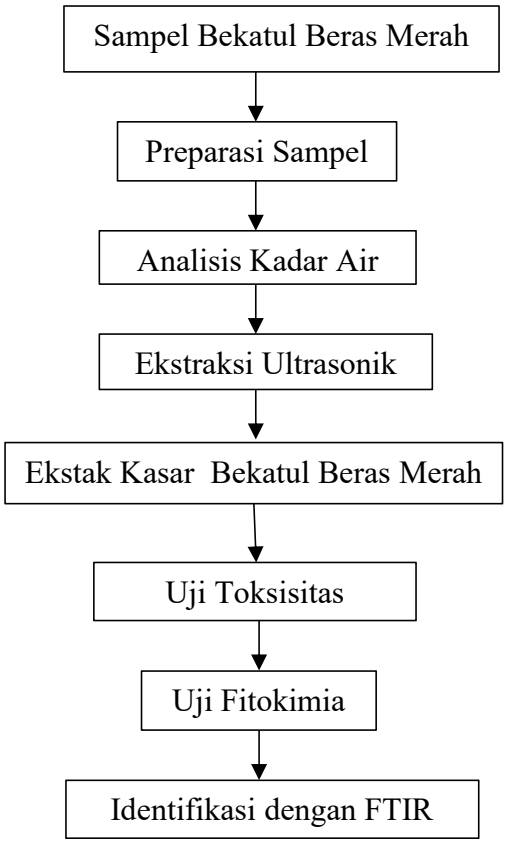
Yuliarti, N. 2009. *A to Z Food Supplement.* Yogyakarta: CV ANDI OFFSET.

Yuswi, N.C.R., 2017. Ekstraksi antioksidan bawang Dayak (Eleutherinepalmifolia) dengan metode ultrasonic bath (kajian jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri,* 5(1).

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.

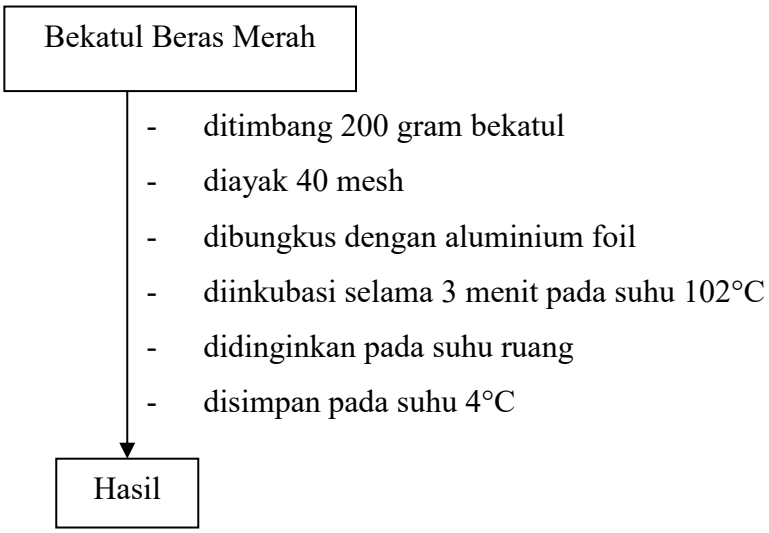
LAMPIRAN

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 25 g bekatul beras merah
- 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 merah menggunakan persamaan

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

  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 Merah

Sampel

- ditimbang sebanyak 25 g
- dimasukkan ke dalam Erlenmeyer (E_1, E_2, E_3, E_4)
- ditambah masing-masing setiap botol pelarut n-heksana sebanyak 125 mL dengan perbandingan bahan : pelarut yaitu 1 : 5
- dimasukkan ke dalam ekstraksi ultrasonik dengan frekuensi 42 KHz pada suhu kamar denganvariasi lama ekstraksi 10, 20 dan 30 menit
- diambil hasil ekstraksi dan diuapkan pelarutnya

Hasil

- disaring dengan kertas saring Whatman

filtrat | residu

- dievaporasi masing masing ekstrak pada suhu 60°C
- diulangi perlakuan sebanyak 3 kali
- dihitung rendemen dari masing-masing ekstrak dengan persamaan :

% rendemen = _____ x 100%

Hasil

L. 2. 4 Uji Toksisitas dengan Larva Udang

2.4.1 Preparasi Larva *Artemia salina L*

Telur *Artemia salina L*

- diambil 100 mg telur *Artemia salina L.*
- direndam dalam wadah yang berisi air laut dibawah cahaya lampu 25 watt
- ditunggu selama 48 jam

Hasil

2.4.2 Uji Toksisitas

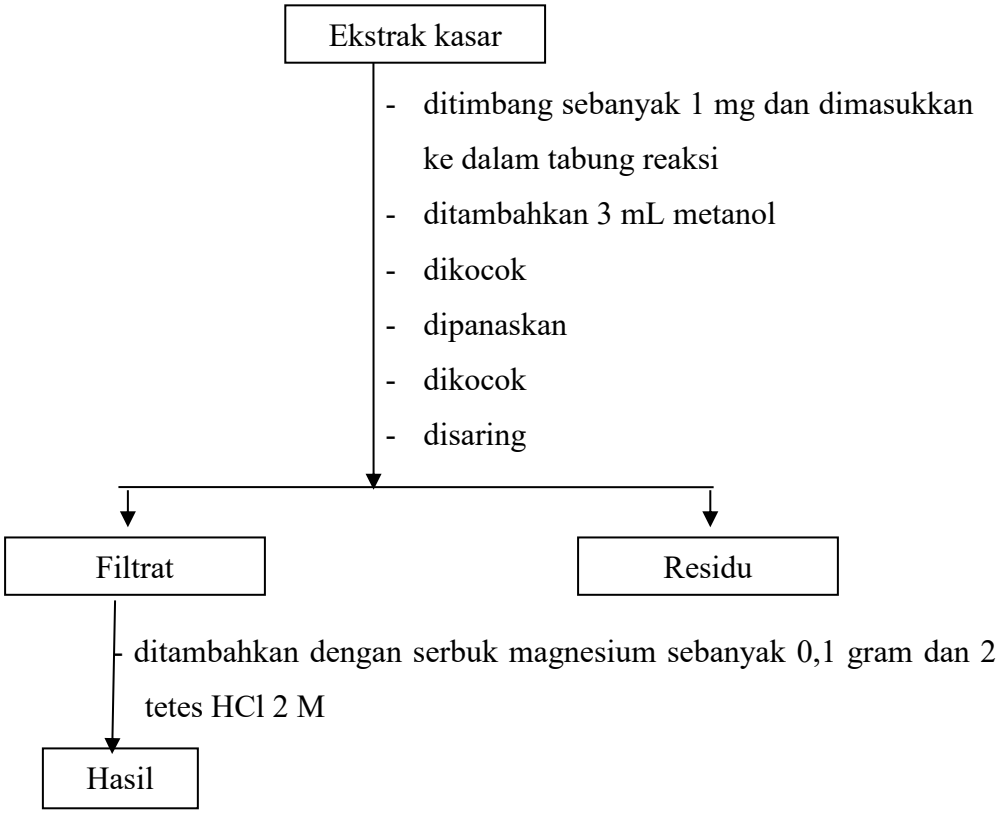
Ekstrak Kasar ±100 mg

- dilarutkan dengan masing-masing pelarut sebanyak 100 mL
- dipipet masing-masing larutan sebanyak 50, 100, 250, 500 dan 1000 µL sehingga terbentuk larutan ekstrak dengan konsentrasi 50, 100, 250, 500 dan 1000 ppm
- diuapkan masing-masing pelarutnya
- ditambahkan sebanyak 100 µL dimetilsulfoksida (DMSO), setetes larutan ragi, 2 mL air laut dan di vortex
- ditambahkan air laut sampai volumenya 10 mL
- dimasukkan 10 ekor larva udang
- diamati kematian larva udah setelah 24 jam
- dilakukan pengulangan masing-masing ekstrak sebanyak lima kali

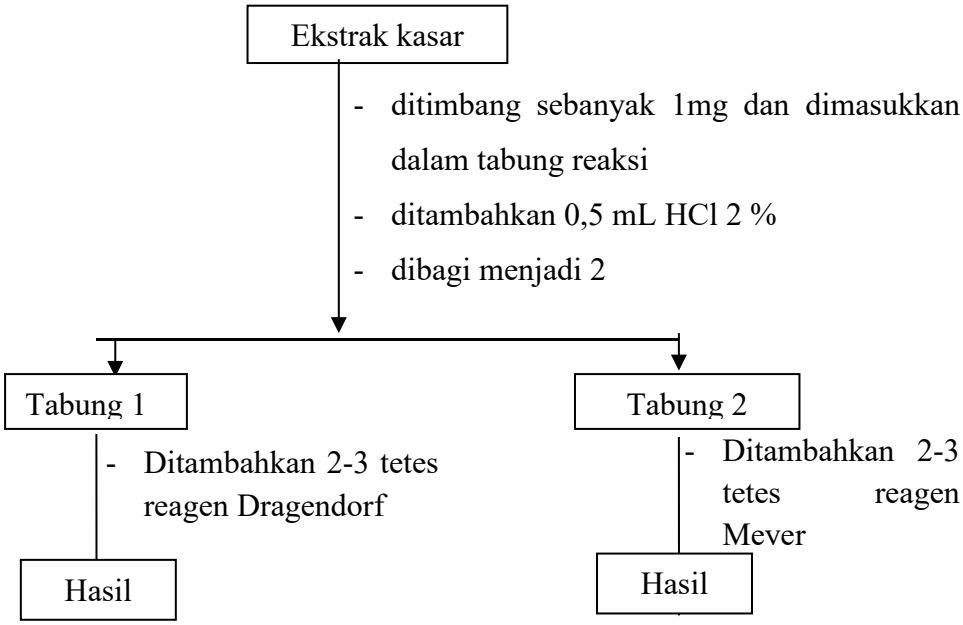
Hasil

L 2.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

2.5.1 Uji Flavanoid



2.5.2 Alkaloid



2.5.3 Tannin

Ekstrak kasar

- ditimbang sebanyak 1 m g dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 2-3 tetes $FeCl_3$ 1%
- ditambahkan 2-3 tetes pereaksi $FeCl_3$

Hasil

2.5.4 Saponin

Ekstrak kasar

- ditimbang sebanyak 1 mg dan dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambahkan 1 mL air
- dikocok selama 1 menit
- ditambahkan dengan 2-3 tetes HCl 1N jika menimbulkan busa
- diamati lama waktu menghilangnya busa

Hasil

2.5.5 Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak Kasar

- ditimbang sebanyak 1 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- dilarutkan dengan kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat
- ditambahkan H_2SO_4 pekat sebanyak 1-2 mL melalui dinding tabung

Hasil

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

Ekstrak kasar

- diteteskan ekstrak pada pellet KBr
- dikeringkan
- dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer FTIR tipe FT 1000

Hasil

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 $Bi(NH_3)_3.5H_2O$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL aquades

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

L.3.2 Pembuatan Reagen Meyer

Prosedur pembuatannya dengan ditimbang HgCl2 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%

mL x V1 = M2 x V2

37% x V1 = 2% x 10 mL

V1 = 0,54 mL

~ 0,5 mL

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 0,5 mL menggunakan pipet ukur 1 mL dan pengambilannya diakukan 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^+)
- Normalitas HCl = n × Molaritas HCl

$$= 1 \times \frac{37\% \times Bj\ HCl}{BM\ HCl\ pekat}$$

$$= \frac{37\% \times 1190\ g/L}{36{,}42\ g/mol} = 12{,}09\ N \sim 12{,}1\ mol/L$$

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$12{,}1\ M \times V_1 = 1\ M \times 100\ mL$

$V_1 = 8{,}26\ mL \sim 8{,}3\ mL$

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

L.3.5 Pembuatan Larutan HCl 2 M

M_1 x V_1 = M_2 x V_2

12,1 M x V_1 = 2M x 100 mL

V_1 = 16,53 mL

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.3.6 Pembuatan Larutan Metanol 50%

Pembuatan Metanol 50%

$M_1.V_1$ = $M_2.V_2$

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

V_1 = 5 mL

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

L.3.7 Pembuatan Larutan $FeCl_3$ 1%

$FeCl_3$ 1% = $\frac{g\ terlarut}{g\ terlarut + g\ pelarut}\ x\ 100\ \%$

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

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

g pelarut = 100 g- 1 g = 99 g

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

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk $FeCl_3.6H_2O$ 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 10.000 ppm Ektrak Bekatul Beras Merah

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

mg = ppm x L

= 10.000 mg/L x 0,01 L

= 100 mg

Jadi, pembuatan larutan stok 10.000 ppm dilakukan dengan melarutkan sebanyak 100 mg sampel masing-masing ekstrak kasar ke dalam labu ukur 10 mL dan ditandabataskan dengan pelarutnya.

L.3.8.1 Pembuatan Larutan Ekstrak 50 ppm

V_1 x M_1 = V_2 x M_2

V_1 x 10000 ppm = 10 mL x 50 ppm

V_1 $= \frac{500 \text{ mL. ppm}}{10000\ ppm}$

V_1 = 0,05 mL = 50 µL

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

L.3.8.2 Pembuatan Larutan Ekstrak 100 ppm

V_1 x M_1 = V_2 x M_2

V_1 x 10000 ppm = 10 mL x 100 ppm

V_1 $= \frac{1000 \text{ mL. ppm}}{10000\ ppm}$

V_1 = 0,1 mL = 100 µL

Jadi, pembuatan larutan ekstrak 100 ppm dilaukan dengan melarutkan sebanyak 100 µL dalam botol vial 10 mL lalu ditandabataskan dengan air laut.

L.3.8.3 Pembuatan Larutan Ekstrak 250 ppm

V_1 x M_1 = V_2 x M_2

V_1 x 10000 ppm = 10 mL x 250 ppm

$V_1 = \frac{2500 \text{ mL. ppm}}{10000\ ppm}$

V_1 = 0,25 mL = 250 µL

Jadi, pembuatan larutan ekstrak 250 ppm dilaukan dengan melarutkan sebanyak 250 µL dalam botol vial 10 mL lalu ditandabataskan dengan air laut.

L.3.8.4 Pembuatan Larutan Ekstrak 500 ppm

V_1 x M_1 = V_2 x M_2

V_1 x 10000 ppm = 10 mL x 500 ppm

$V_1 = \frac{5000 \text{ mL. ppm}}{10000\ ppm}$

V_1 = 0,5 mL = 500 µL

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

L.3.8.4 Pembuatan Larutan Ekstrak 1000 ppm

V_1 x M_1 = V_2 x M_2

V_1 x 10000 ppm = 10 mL x 1000 ppm

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

V_1 = 1 mL = 1000 µL

Jadi, pembuatan larutan ekstrak 1000 ppm dilakukan dengan melarutkan sebanyak 1000 µL dalam botol vial 10 mL lalu ditandabataskan dengan air laut.

L.3.9 Pembuatan Larutan Ragi

Pembuatan larutan ragi dilakukan dengan melarutkan ragi sebanyak 0,1 mg ke dalam 10 mL air laut

Lampiran 4 Data Pengamatan dan Hasil Perhitungan

L.4.1 Penentuan Kadar Air Bekatul Beras Merah

L.4.1.1 Data Berat Cawan Kosong

Ulangan	Berat cawan kosong (gr)		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	72,4660	49,9196	58,7374
Ulangan 2	72,4659	49,9195	58,7370
Ulangan 3	72,4657	49,9190	58,7372

L.4.1.2 Data Berat Cawan + Sampel

Ulangan	Berat cawan kosong (gr) + bekatul sebelum dioven		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	77,4660	54,9196	63,7374
Ulangan 2	77,4659	54,9198	63,7169
Ulangan 3	77,4142	54,9334	63,7588
Ulangan	**Berat cawan kosong (gr) + bekatul setelah dioven**		
Ulangan 1	77,3490	54,9090	63,6885
Ulangan 2	77,3480	54,8978	63,7073
Ulangan 3	77,3533	54,8791	63,6960

1. **Kadar air sampel pada cawan C1**

Kadar air = $\frac{\text{(berat cawan+sampel sebelum dioven)}-\text{(berat cawan+sampel setelah dioven)}}{\text{(berat cawan+sampel sebelum dioven)}-\text{(berat cawan+kosong)}}$ x 100 %

$= \frac{77{,}4142\ \text{g} - 77{,}3533\ \text{g}}{77{,}4142\ g - 72{,}46495\ g}$ x 100 %

= 1,23 %

2. Kadar air sampel pada cawan C2

Kadar air = $\frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+kosong})}$ x 100 %

= $\frac{54{,}9334\ \text{g} - 54{,}8791\ \text{g}}{54{,}93345\ g - 49{,}9196\ g}$ x 100 % = 1,08 %

3. Kadar air sampel pada cawan C3

Kadar air = $\frac{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+sampel setelah dioven})}{(\text{berat cawan+sampel sebelum dioven})-(\text{berat cawan+kosong})}$ x 100%

= $\frac{63{,}7588\ \text{g} - 63{,}6960\ \text{g}}{63{,}7588\ g - 58{,}7373\ g}$ x 100 % = 1,25 %

Kadar air rata-rata = $\frac{1{,}231\% + 1{,}0828\% + 1{,}25\%}{3}$

= $\frac{3{,}563\ \%}{3}$

= 1,19 %

L.4.3 Perhitungan Rendeman Ekstraksi Ultrasonik Bekatul Beras Merah

L.4.3.1 Data Hasil Ekstraksi Ultrasonik Bekatul Beras Merah

Variasi waktu (menit)	Warna Ekstrak	Ekstrak Kasar (g)	Rendemen (%)
10	Hijau tua	1,5711	6,28
20	Hijau tua pekat	1,6265	6,51
30	Hijau tua pekat	1,7536	7,01

1. Hasil Rendemen Ekstrak Bekatul Beras Merah waktu 10 menit

$$\%\ rendemen = \frac{berat\ eksrak\ pekat\ (g)}{berat\ sampel\ (g)}\ x\ 100\%$$

= $\frac{1{,}5711\ g}{25\ \text{g}}\ x\ 100\ \%$

= 6,28 %

2. Hasil Rendemen Ekstrak Bekatul Beras Merah waktu 20 menit

$$\%\, rendemen = \frac{berat\ eksrak\ pekat\ (g)}{berat\ sampel\ (g)}\ x\ 100\%$$

$$= \frac{1{,}6265\ g}{25\ \mathrm{g}}\ x\ 100\ \%$$

= 6,51 %

3. Hasil Rendemen Ekstrak Bekatul Beras Merah waktu 30 menit

$$\%\, rendemen = \frac{berat\ eksrak\ pekat\ (g)}{berat\ sampel\ (g)}\ x\ 100\%$$

$$= \frac{1{,}7536\ g}{25\ \mathrm{g}}\ x\ 100\ \%$$

= 7,01 %

L.4.4 Hasil Uji Toksisitas Bekatul Beras Merah

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

Mortalitas = % Mortalitas x Jumlah keseluruhan larva (50)

1. Perhitungan pada konsentrasi 50 ppm (E1)

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

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

=10%

Mortalitas = % Mortalitas x Jumlah keseluruhan larva (50)

= 10% x 50

= 5

2. Perhitungan pada konsentrasi 100 ppm (E2)

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

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

= 40%

Mortalitas = % Mortalitas x Jumlah keseluruhan larva (50)

= 40% x 50

= 20

3. Perhitungan pada konsentrasi 250 ppm (E3)

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

$= \frac{7}{10}$ x 100%

= 70%

Mortalitas = % Mortalitas x Jumlah keseluruhan larva (50)

= 70% x 50

= 35

L.4.4.1 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Merah 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
50	1	0	1	1	0	1	10	5
100	1	2	2	2	1	2	20	10
250	4	2	4	5	4	4	40	20
500	6	9	6	6	9	6	60	30
1000	8	9	9	8	8	8	80	40

WORKSHEET 1

Probit Analysis: mortalitas; N versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	105
	Non-event	145
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-0,985862	0,133142	-7,40	0,000
konsentrasi	0,0020291	0,0002679	7,58	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -137,175

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	6,88028	3	0,076
Deviance	7,15808	3	0,067

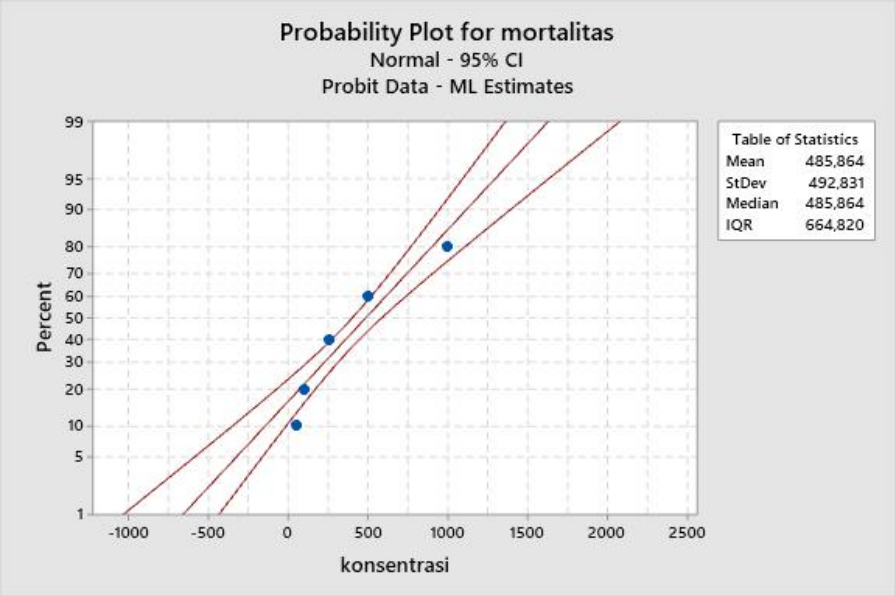
Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI Lower	Upper
Mean	485,864	45,3728	396,935	574,793
StDev	492,831	65,0577	380,481	638,357

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI Lower	Upper
1	-660,634	143,385	-1035,26	-434,693
2	-526,288	126,578	-855,854	-326,136
3	-441,051	116,057	-742,307	-256,977
4	-376,929	108,239	-657,083	-204,758
5	-324,772	101,957	-587,912	-162,130
6	-280,378	96,6741	-529,166	-125,718
7	-241,453	92,0996	-477,772	-93,6763
8	-206,600	88,0566	-431,860	-64,8813
9	-174,903	84,4291	-390,205	-38,5939
10	-145,725	81,1375	-351,957	-14,3008
20	71,0863	58,8472	-72,1487	170,624
30	227,423	47,2187	120,393	313,188
40	361,006	43,0188	272,664	447,252
50	485,864	45,3728	401,370	586,176
60	610,721	53,0104	518,713	736,464
70	744,305	64,9278	636,385	905,127
80	900,641	81,5499	768,606	1108,01
90	1117,45	106,943	947,250	1394,10
91	1146,63	110,481	971,050	1432,84
92	1178,33	114,347	996,860	1474,97
93	1213,18	118,623	1025,19	1521,35
94	1252,11	123,427	1056,77	1573,20
95	1296,50	128,937	1092,73	1632,40
96	1348,66	135,447	1134,91	1702,02
97	1412,78	143,500	1186,66	1787,71
98	1498,02	154,272	1255,32	1901,76
99	1632,36	171,376	1363,29	2081,76


Probability Plot for mortalitas
Normal - 95% CI
Probit Data - ML Estimates
Percent
99
95
90
80
70
60
50
40
30
20
10
5
1
-1000
-500
0
500
1000
1500
2000
2500
konsentrasi
Table of Statistics
Mean 485,864
StDev 492,831
Median 485,864
IQR 664,820

L.4.4.2 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Merah Selama 20 menit (E2)

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

WORKSHEET 1

Probit Analysis: mortalitas; N versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	145
	Non-event	105
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-0,348126	0,121895	-2,86	0,004
konsentrasi	0,0015527	0,0002646	5,87	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -150,857

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	22,4198	3	0,000
Deviance	23,2059	3	0,000

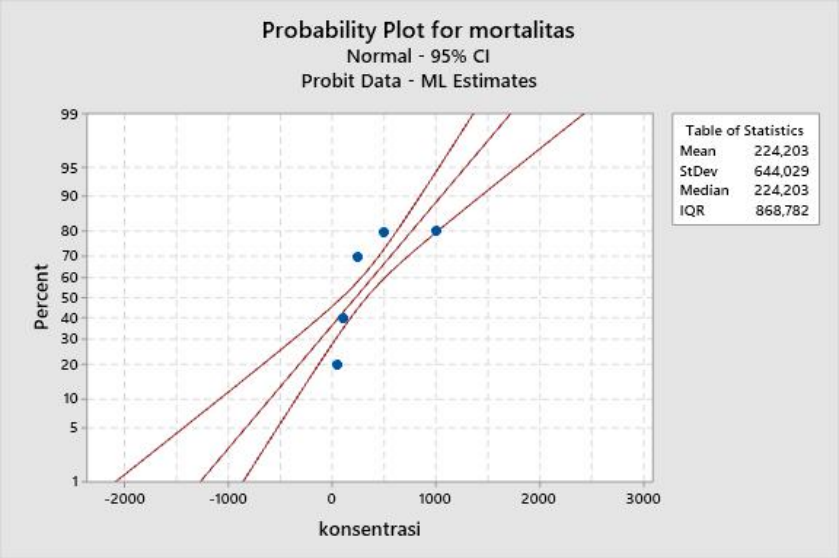
Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI Lower	Upper
Mean	224,203	57,2050	112,084	336,323
StDev	644,029	109,741	461,173	899,389

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI Lower	Upper
1	-1274,03	279,303	-2090,78	-861,059
2	-1098,47	250,021	-1828,43	-728,207
3	-987,083	231,526	-1662,14	-643,750
4	-903,290	217,668	-1537,16	-580,108
5	-835,131	206,438	-1435,58	-528,257
6	-777,117	196,914	-1349,19	-484,053
7	-726,249	188,594	-1273,50	-445,235
8	-680,704	181,173	-1205,79	-410,422
9	-639,282	174,449	-1144,25	-378,711
10	-601,154	168,284	-1087,66	-349,472
20	-317,826	123,541	-669,277	-130,062
30	-113,526	93,4867	-372,074	32,6292
40	61,0402	71,3217	-125,455	178,972
50	224,203	57,2050	90,6580	330,152
60	387,366	54,8087	279,889	508,214
70	561,932	66,5478	449,232	731,834
80	766,232	91,3414	622,953	1018,01
90	1049,56	133,355	847,900	1430,85
91	1087,69	139,320	877,542	1487,04
92	1129,11	145,851	909,639	1548,19
93	1174,66	153,086	944,823	1615,53
94	1225,52	161,224	984,003	1690,86
95	1283,54	170,570	1028,56	1776,89
96	1351,70	181,623	1080,76	1878,12
97	1435,49	195,300	1144,77	2002,75
98	1546,88	213,603	1229,60	2168,65
99	1722,44	242,663	1362,89	2430,56


Probability Plot for mortalitas
Normal - 95% CI
Probit Data - ML Estimates
Percent
99
95
90
80
70
60
50
40
30
20
10
5
1
-2000
-1000
0
1000
2000
3000
konsentrasi
Table of Statistics
Mean 224,203
StDev 644,029
Median 224,203
IQR 868,782

L.4.4.3 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Merah 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
50	2	2	1	1	2	2	20	10
100	4	4	3	5	4	4	40	20
250	7	6	8	7	7	7	70	35
500	8	9	8	8	7	8	80	40
1000	9	9	10	10	9	9	90	45

WORKSHEET 1

Probit Analysis: mortalitas; N versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	150
	Non-event	100
N	Total	250

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-0,450359	0,125946	-3,58	0,000
konsentrasi	0,0021143	0,0003096	6,83	0,000
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -138,521

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	15,8710	3	0,001
Deviance	16,0650	3	0,001

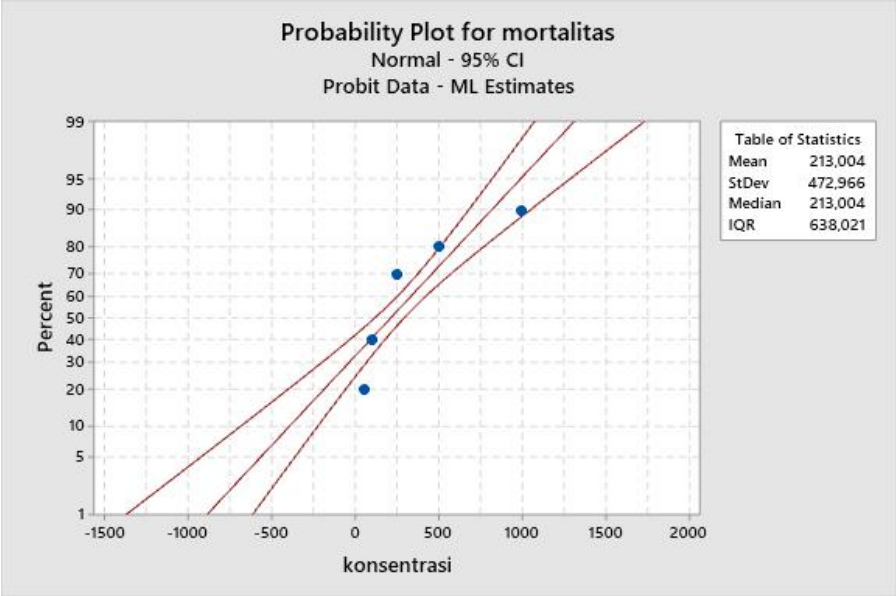
Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI Lower	Upper
Mean	213,004	42,9071	128,908	297,101
StDev	472,966	69,2642	354,956	630,210

Table of Percentiles

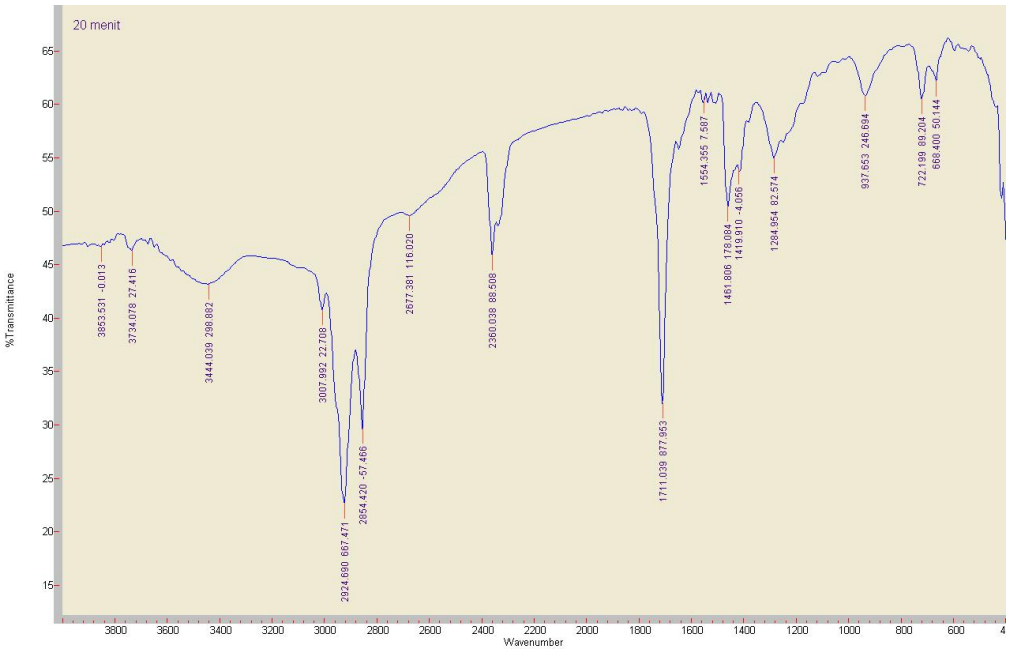
Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI Lower	Upper
1	-887,279	177,757	-1372,12	-614,446
2	-758,349	159,452	-1192,41	-513,137
3	-676,547	147,913	-1078,55	-448,711
4	-615,010	139,281	-992,986	-400,149
5	-564,955	132,298	-923,464	-360,573
6	-522,350	126,385	-864,350	-326,826
7	-484,994	121,227	-812,573	-297,184
8	-451,546	116,633	-766,261	-270,594
9	-421,127	112,477	-724,186	-246,368
10	-393,126	108,673	-685,498	-224,026
20	-185,054	81,3107	-399,830	-56,1859
30	-35,0191	63,3665	-197,465	68,4587
40	93,1798	50,6163	-29,9061	180,318
50	213,004	42,9071	117,702	293,875
60	332,829	41,6639	251,051	421,692
70	461,028	48,0137	376,695	575,466
80	611,062	62,1854	509,193	769,978
90	819,134	87,3549	681,477	1051,20
91	847,136	90,9899	704,159	1089,55
92	877,555	94,9818	728,713	1131,30
93	911,003	99,4166	755,620	1177,29
94	948,359	104,419	785,574	1228,76
95	990,964	110,178	819,627	1287,56
96	1041,02	117,007	859,509	1356,78
97	1102,56	125,480	908,386	1442,03
98	1184,36	136,850	973,146	1555,56
99	1313,29	154,957	1074,85	1734,87



L.4.4.4 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana Bekatul Beras Merah

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
50	1	2	2	5	10	10
100	2	4	4	10	20	20
250	4	7	7	20	35	35
500	6	8	8	30	40	40
1000	8	8	9	40	40	45

Lampiran 5 Data Hasil Spektrofotometer FTIR Bekatul Beras Merah



Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian

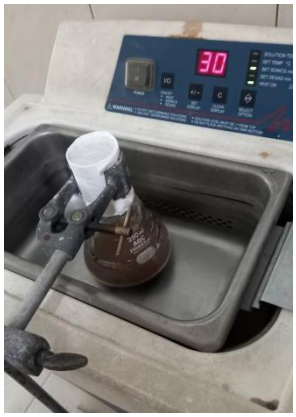
L.6.1 Preparasi Sampel

Pengayakan menggunakan ayakan 60 mesh	Sampel setelah diinkubasi

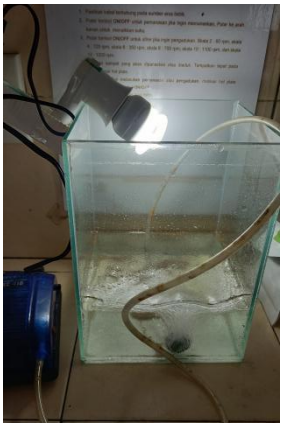
L.6.2 Uji Gravimetri

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

L.6.2 Ekstraksi Ultrasonik Bekatul Beras Merah

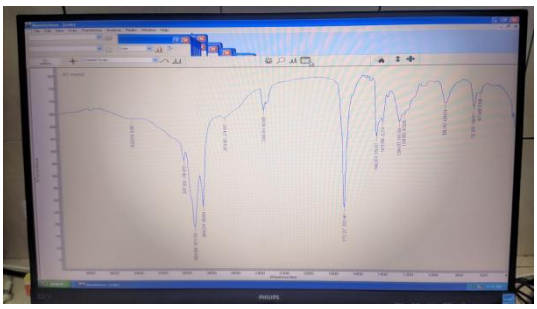
 Penimbangan sampel	 Proses ekstraksi
 Penyaringan filtrat dengan ampas	 Hasil filtrat
 Penguapan dengan *rotary evaporator*	 Hasil ekstrak bekatul beras merah

L.6.3 Uji Toksisitas

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

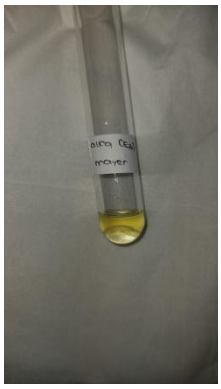
Vial ditunggu selama 24 jam

L.6.5 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer FTIR



L.6.6 Uji Fitokimia

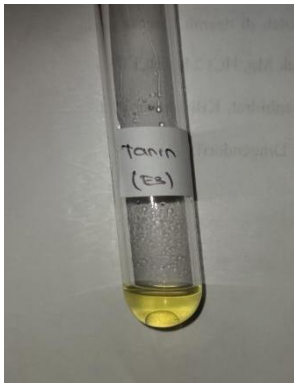
L.6.6.1 Uji Alkaloid



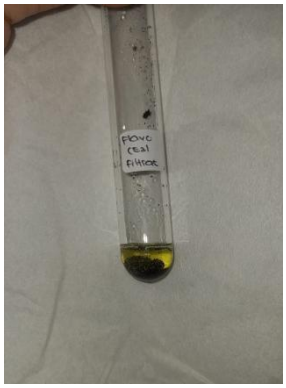
Reagen Meyer

Reagen Dragendorf

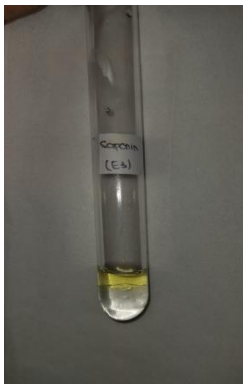
L.6.6.2 Uji Tannin



L.6.6.3 Uji Flavonoid



L.6.6.4 Uji Saponin



L.6.6.5 Uji Triterpenoid dan Steroid