

UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL BERAS HITAM (*Oryza sativa L. indica*) MENGGUNAKAN METODE THOMSON WEIL PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*)

Dita Maranata^{1*}

Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia
Madiun¹

Email: ditamaranata11@gmail.com

ABSTRAK

Beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) merupakan salah satu jenis beras berpigmen yang memiliki kandungan metabolit sekunder berupa antosianin, flavonoid, tanin, serta senyawa bioaktif lain yang diketahui berperan penting sebagai antioksidan, antiinflamasi, serta agen pencegah berbagai penyakit degeneratif. Meskipun telah banyak dilaporkan mengenai manfaat kesehatan dari beras hitam, namun informasi terkait batas keamanan konsumsi dalam dosis tinggi masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi toksisitas akut EEBH. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan mencit putih jantan (*Mus musculus*). Uji toksisitas akut ditentukan dengan nilai LD₅₀ menggunakan metode Thomson-Weil. Hewan uji dibagi ke dalam beberapa kelompok perlakuan yang diberikan dosis ekstrak berbeda (40% b/v, 60% b/v, 90% b/v, dan 135% b/v) yang dikonversi ke dalam satuan mg/kgBB. Pengukuran berat badan mencit dilakukan pada sebelum dilakukan induksi EEBH dan setelah 24 jam induksi EEBH kemudian dilanjutkan pengukuran berat badan selama 7 hari. Analisis data berat badan menggunakan metode One Way Anova. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa EEBH positif mengandung flavonoid, tanin, dan saponin, sedangkan uji alkaloid, terpenoid, dan steroid memberikan hasil negatif. Hasil pengamatan toksisitas menunjukkan bahwa kematian hewan uji hanya terjadi pada dosis konsentrasi 90% b/v dan 135% b/v, sedangkan pada dosis lebih rendah tidak ditemukan kematian. Berdasarkan analisis metode Thomson-Weil, diperoleh nilai LD₅₀ sebesar 23.442 mg/kgBB, yang termasuk dalam kategori tidak toksik karena berada di atas 5000 mg/kgBB. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol beras hitam relatif aman untuk dikonsumsi.

Kata Kunci: Beras hitam, toksisitas akut, Thomson-Weil, LD50

ABSTRACT

*Black rice (*Oryza sativa L. indica*) is a type of pigmented rice that contains secondary metabolites such as anthocyanins, flavonoids, tannins, and other bioactive compounds that play important roles as antioxidants, anti-inflammatory agents, and as preventive agents against various degenerative diseases. Although the health benefits of black rice have been widely reported, information regarding its safety limits when consumed at high doses remains very limited. Therefore, this study aimed to evaluate the acute toxicity of ethanol extract of black rice. This research was an experimental study using male white mice (*Mus musculus*) as test*

animals. Acute toxicity was determined based on the LD₅₀ value using the Thomson-Weil method. The test animals were divided into several treatment groups that were administered different doses of EEBR, namely 40% b/v, 60% b/v, 90% b/v, and 135% b/v, which were converted into mg/kgBW. Body weight was measured before EEBR induction, 24 hours after induction, and continued up to day 7. Data on body weight changes were analyzed using One Way ANOVA. Phytochemical screening revealed that EEBR tested positive for flavonoids, tannins, and saponins, while alkaloids, terpenoids, and steroids showed negative results. Toxicity observations indicated that mortality occurred in the treatment groups receiving 90% b/v and 135% b/v doses, while no deaths were observed at lower doses. Based on the Thomson-Weil analysis, the LD₅₀ value was determined to be 23,442 mg/kgBW. This value falls into the non-toxic category since it is greater than 5000 mg/kgBW. Thus, it can be concluded that the ethanol extract of black rice is relatively safe for consumption.

Keywords: *Black rice, acute toxicity, Thomson-Weil, LD₅₀.*

PENDAHULUAN

Beras berpigmen yang dikenal sebagai beras hitam (*Oryza sativa L.indica*) memiliki lapisan hitam pada endospermanya. Meningkatnya konsumsi beras berwarna seperti beras hitam dapat dikaitkan dengan pergeseran masyarakat ke arah praktik makan sehat. Beras hitam berpotensi sebagai pangan fungsional karena memiliki kandungan komponen bioaktif, yaitu senyawa polifenol, flavonoid, asam fitat, dan γ -orizanol yang berperan sebagai antioksidan, anti inflamasi dan memiliki manfaat penting lainnya untuk kesehatan. Keunggulan lainnya yang dimiliki oleh beras hitam adalah pada kandungan mineral, senyawa fitokimia seperti asam lemak tidak jenuh, GABA, γ -orizanol, protein, fenolik, antosianin, dan vitamin, yang komposisinya tergantung pada varietas tanaman yang di budidayakan dan Lokasi penanamannya (1).

Kapasitas antioksidan beras hitam dikaitkan dengan fungsi peningkatan kesehatan, termasuk pencegahan penyakit kardiovaskular, diabetes, obesitas, dan kanker. Di antara asam fenolik, asam ferulat, asam p-kumarat, asam vanilat, asam galat, rutin, quercetin, asam siringat, dan asam protokatekuat merupakan senyawa utama yang ditemukan dalam beras hitam. Namun, kandungan fitokimia ini dapat bervariasi menurut proses pasca panen dan industri (2). Berdasarkan jurnal penelitian sebelumnya menyatakan bahwa beras hitam memiliki khasiat sebagai antidiabetes karena mengandung senyawa metabolit sekunder antosianin yang merupakan komponen utama dalam beras hitam dengan meregenerasi sel beta di

pankreas, meningkatkan kadar GLUT 1 dan GLUT 4, menghambat enzim α -glukosidase dan α -amilase dan menghambat stres oksidatif (3).

Kandungan serat yang tinggi dalam beras hitam juga berpotensi menurunkan kadar gula darah dengan cara menghambat pelepasan glukosa selama pencernaan. Yeast dari beras hitam memiliki khasiat antidiabetes karena kandungan kromium yang tinggi dengan aktivitas antidiabetes mengendalikan metabolisme glukosa darah (3). Beras hitam mengandung asam folat yang cukup tinggi. Asam folat membantu mencegah anemia dan defisiensi folat yang dapat terjadi selama kehamilan. Vitamin B12 pada nasi beras hitam juga penting dalam pembentukan sel darah merah dan fungsi saraf yang sehat. Vitamin B12 berperan dalam penyerapan zat besi yang efektif dalam tubuh, sehingga dapat membantu dalam penanganan anemia. Meskipun tidak langsung terkait dengan penanganan anemia, serat dalam nasi beras hitam dapat membantu menjaga kesehatan pencernaan dan penyerapan nutrisi yang optimal (4).

Beras hitam merupakan tanaman yang potensial, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai kadar toksisitasnya. Uji toksisitas akut merupakan salah satu uji praklinik yang sangat penting. Karena bertujuan untuk mendeteksi toksisitas suatu zat, memperoleh informasi bahaya setelah pemaparan suatu zat secara akut atau memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis, merancang uji toksisitas selanjutnya dan dapat memperoleh nilai LD50 suatu bahan atau sediaan, serta penentuan penggolongan dan pelabelan keamanan suatu bahan atau sediaan yang di uji. Hasil uji toksisitas tidak dapat digunakan secara mutlak untuk membuktikan keamanan suatu bahan atau sediaan pada manusia namun dapat memberikan petunjuk adanya toksisitas dan membantu identifikasi efek toksik bila terjadi pemaparan pada manusia (5).

Toksitas akut dapat dinilai dengan menghitung nilai LD50 menggunakan metode Thomson-Weil dengan tingkat keakurasian 95% (6). Metode Thomson-Weil merupakan metode yang sering digunakan dalam penentuan tingkat ketoksikan suatu senyawa. Metode ini dipilih karena mempunyai tingkat kepercayaan yang cukup tinggi, hasil yang akurat, dan tidak memerlukan hewan coba yang cukup banyak. Berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan penelitian mengenai toksitas akut dari ekstrak etanol beras hitam, penelitian toksitas akut

ekstrak etanol beras hitam belum ada sehingga perlu diteliti lebih lanjut agar diketahui batas keamanan dari ekstrak etanol beras hitam.

METODE PENELITIAN

Alat

Mortar, stamper, batang pengaduk, gelas ukur, erleyenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, timbangan mencit, cawan porselin, timbangan analitik, oral sonde, spuit 1 mL.

Bahan

Ekstrak beras hitam, aquadest, kloroform, amoniak, asam sulfat 2N, dragendorff, etanol 70%, Mg 0,1 gram, HCl pekat, air panas, FeCl₃, asam sulfat pekat, asam asetat anhidrat.

Prosedur kerja

Pembuatan Ekstrak Etanol Beras Hitam

Pembuatan ekstrak beras hitam menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Simplisia beras hitam (*Oryza Sativa L. Indica*) ditimbang sebanyak 3000 gram. Proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:5 dengan pelarut etanol 96% sebanyak 15 L dan dikocok sampai benar-benar tercampur. Proses maserasi disimpan selama 3 x 24 jam pada suhu kamar, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Hasil maserat yang diperoleh kemudian dilakukan proses evaporasi pada suhu 60°C dan pengendapan dengan waterbath untuk diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Beras Hitam

Konsentrasi yang dibuat untuk pengujian adalah 40% b/v, 60% b/v, 90% b/v dan 135% b/v. Pada konsentrasi 40 b/v diambil ekstrak kental sebanyak 40 gram dimasukkan kedalam lumpang, ditambahkan sedikit demi sedikit aquadest sebanyak 100 mL sambil diaduk hingga homogen. Konsentrasi 60% b/v diambil ekstrak kental sebanyak 60 gram dimasukkan kedalam lumpang, ditambahkan sedikit demi sedikit aquadest sebanyak 100 mL sambil diaduk hingga homogen. Konsentrasi 90% b/v diambil ekstrak kental sebanyak 90 gram, dimasukan kedalam lumpang ditambahkan sedikit demi sedikit aquadest sebanyak 100 mL sambil diaduk hingga homogen. Konsentrasi 135% b/v diambil ekstrak kental sebanyak 135

gram, dimasukkan kedalam lumpang ditambahkan sedikit demi sedikit aquadest sebanyak 100 mL sambil diaduk sampai homogen (7).

Uji Skrining Fitokimia Ekstrak

Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan 2 ml asam klorida (HCl) dan 1-3 tetes larutan Dragendorff. Terbentuknya endapan warna merah coklat menandakan bahwa ekstrak positif mengandung alkaloid.

Identifikasi Flavonoid

1 gram ekstrak pekat ditambahkan 2 mg bubuk magnesium sulfat dan 3 tetes HCl pekat. Tempatkan sampel dalam tabung reaksi, kocok dan amati perubahan yang terjadi. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada larutan menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Identifikasi Tanin

Sampel sebanyak 1 gram direaksikan dengan larutan FeCl₃ sebanyak 2 tetes. Jika terjadi warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin.

Identifikasi Saponin

2 gram ekstrak pekat ditempatkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 mL air panas kemudian dikocok secara vertikal selama ± 10 detik yang menunjukkan adanya buih pada sampel. Terbentuknya buih setinggi 1-10 cm yang stabil selama minimal 10 menit (busa tidak hilang) menunjukkan adanya saponin.

Identifikasi Terpenoid dan Steroid

Sampel sebanyak 1 gram ditambahkan 3 mL etanol dan ditambah 2 mL asam sulfat pekat dan 2 mL asam asetat anhidrat. Perubahan warna dari ungu kebiru atau hijau menunjukkan senyawa steroid dan terbentuknya warna kecoklatan antar permukaan menunjukkan adanya senyawa terpenoid.

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan berbobot 20-30 gram sebanyak 24 ekor dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor. Sebelum diberikan perlakuan hewan uji dipuasakan selama 12 jam, tetapi tetap diberi minum. Kemudian masing-masing hewan uji ditimbang dan diberi tanda pada bagian tubuhnya menggunakan spidol.

Hewan uji ditimbang terlebih dahulu untuk menghitung dosis berdasarkan berat tikus, kemudian dilakukan perlakuan terhadap 4 kelompok hewan uji sebagai berikut:

Kelompok Perlakuan 1 : konsentrasi dosis 40% b/v

Kelompok Perlakuan 2 : konsentrasi dosis 60% b/v

Kelompok Perlakuan 3 : konsentrasi dosis 90% b/v

Kelompok Perlakuan 4 : konsentrasi dosis 135% b/v

Pemberian pada mencit dilakukan menggunakan sonde oral dengan dosis tunggal.

Perhitungan LD₅₀ Metode Thomson and Weil

Perhitungan LD₅₀ menggunakan metode Thomson-Weil dihitung dengan rumus:

$$\text{Log LD}_{50} = \text{Log D} + d (f+1)$$

Keterangan :

D = Dosis terkecil yang digunakan

d = logaritma kelipatan

f = faktor yang diperoleh dari tabel

Kemudian menentukan kategori toksisitas. Kategori toksisitas sebagai berikut :

Tabel 1. Kategori Rentang Toksisitas Berdasarkan Nilai LD₅₀ (8)

Kategori	Rentang Nilai
Super toksik	< 5 mg/kg
Sangat toksik	>5 mg/kg-50 mg/kg
Toksik	> 50 mg/kg -500 mg/kg
Toksik sedang	> 500 mg/kg -2000 mg/kg
Toksik ringan	> 2000 mg/kg mg/kg
Tidak toksik	>5000 mg/kgBB

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Beras Hitam

Ekstrak Etanol Beras Hitam kemudian di uji skrining fitokimia. Skrining fitokimia merupakan suatu metode yang digunakan untuk menganalisis golongan senyawa aktif secara kualitatif dalam sampel dan mempelajari perbedaan komposisi golongan senyawa kimia dari berbagai jenis tanaman, analisis senyawa metabolit sekunder dapat menjadi dasar dalam suatu penelitian, terutama pada beberapa tumbuhan yang masih jarang dijadikan subjek penelitian (9). Hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Hasil Uji kandungan kimia ekstrak etanol beras hitam diperoleh ekstrak beras hitam mengandung senyawa flavanoid, saponin, dan tanin. Hasil uji alkaloid tidak menghasilkan endapan sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol beras hitam tidak mengandung alkaloid. Hasil uji flavonoid menghasilkan hasil positif warna merah yang ditandai adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium. Hasil uji saponin menghasilkan positif, dimana uji ini termasuk uji yang sederhana dimana setelah penambahan aquadest panas dan dilakukan pengocokan akan membentuk buih pada permukaan. Terbentuknya buih karena sifat dasar saponin yang membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk buih ketika pengocokan.

Hasil uji tanin menghasilkan positif warna hijau kehitaman, penambahan ekstrak dengan $FeCl_3$ membentuk hijau kehitaman karena tanin akan bereaksi dengan ion membentuk senyawa kompleks. Hasil Uji terpenoid dan steroid menghasilkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna, sehingga dapat dikatakan bahwa ekstrak beras hitam tidak mengandung senyawa terpenoid/steroid.

Uji Toksisitas Akut

Berdasarkan hasil penelitian pengukuran berat badan mencit menunjukkan adanya perubahan terhadap berat badan mencit, data yang diperoleh menunjukkan hubungan antara dosis terhadap berat badan hewan uji yang dapat dilihat pada rata-rata berat badan mencit dan presentase penurunan berat badan dibawah ini :

Tabel 2. Rata-Rata Berat Badan Mencit

Kelompok Uji	Berat Badan (gram) \pm SD			
	BB0	BB1	BB2	% Penurunan BB
EEBH 40% b/v	25,18 \pm 1,87	24,98 \pm 1,87	24,21 \pm 1,88	3,11 \pm 0,24 ^{c,d}
EEBH 60% b/v	26,35 \pm 0,68	26 \pm 0,68	24,96 \pm 0,68	4 \pm 0,24 ^d
EEBH 90% b/v	29,98 \pm 1,80	29,57 \pm 1,80	28,08 \pm 1,80	5,07 \pm 0,32 ^a
EEBH 135% b/v	25,6 \pm 1,31	25 \pm 1,31	23,49 \pm 0,80	5,93 \pm 2,47 ^{a,b}

Keterangan :

BB0 = berat badan awal mencit

BB1 = berat badan setelah induksi

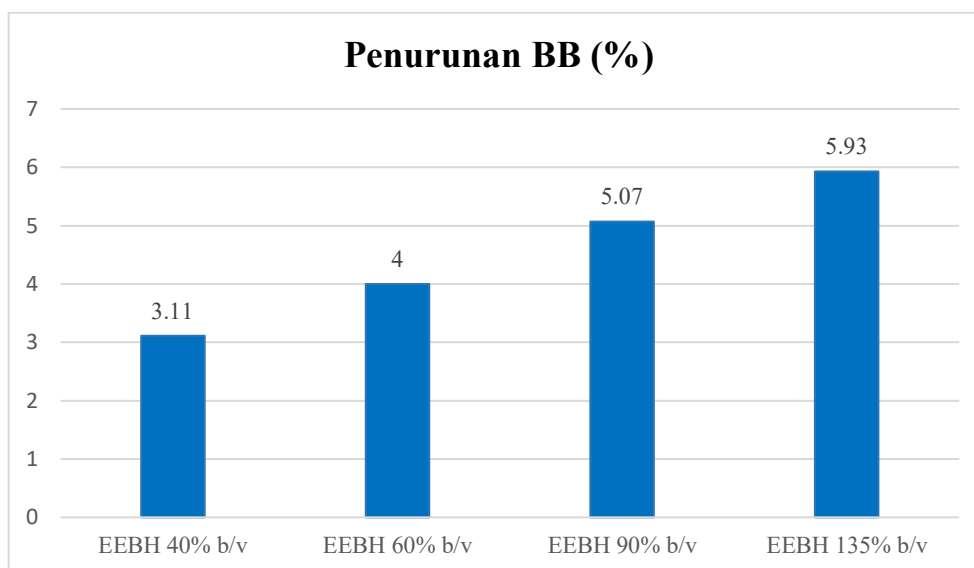
BB2 = berat badan akhir

a = berbeda bermakna dengan konsentrasi 40% b/v

b = berbeda bermakna dengan konsentrasi 60% b/v

c = berbeda bermakna dengan 90% b/v

d = berbeda bermakna dengan 135% b/v



Gambar 1. Presentase Penurunan Berat Badan

Presentase penurunan berat badan pada mencit menunjukkan bahwa masing-masing dosis ekstrak etanol beras hitam memiliki perbedaan dalam menurunkan berat badan mencit yaitu pada dosis konsentrasi 40% b/v persen penurunan berat badan pada mencit adalah 3,11%, dosis konsentrasi 60% b/v persen penurunan berat badan pada mencit adalah 4%, dosis konsentrasi 90% b/v persen penurunan berat badan pada mencit adalah 5,07%, dosis konsentrasi 135% b/v penurunan berat badan pada mencit adalah 5,93%. Variasi berat badan awal pada hewan uji dapat memberikan pengaruh terhadap presentase penurunan berat badan hewan uji selama perlakuan. Hal ini disebabkan karena perhitungan presentase penurunan berat badan ditentukan berdasarkan perbandingan antara selisih berat badan dan berat badan awal.

Beras hitam merupakan jenis beras yang mengandung antosianin sangat tinggi sehingga beras menjadi warna ungu pekat bahkan menjadi hitam. Senyawa antosianin termasuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid bekerja menurunkan kadar kolesterol dari dalam darah dengan menghambat kerja enzim 3-hidroksi 3-metilglutaril koenzim A reduktase (HMG Co-A reduktase). Berkurangnya kadar kolesterol yang memasuki aliran darah akan memperkecil kemungkinan terjadinya penumpukan lemak di organ tubuh dan memperkecil terjadinya obesitas. Penelitian farmakologis jangka panjang yaitu pengamatan penurunan berat badan tikus selama 14 hari dengan dosis konsentrasi yang rendah dan relatif aman yaitu 5% b/v, 10%

b/v, dan 15% b/v. Penurunan berat badan secara signifikan pada masing-masing dosis terhadap hewan uji merupakan parameter keberhasilan terapi (7).

Namun berbeda dengan penelitian toksisitas akut, penurunan berat badan yang terlalu cepat harus diwaspadai sebagai tanda efek toksik. Oleh karena itu dilakukan uji toksisitas akut dengan dosis yang lebih tinggi yaitu dengan dosis konsentrasi 40% b/v, 60% b/v, 90% b/v, 135% b/v. Penggunaan dosis dalam bentuk konsentrasi b/v karena mengacu pada penelitian terdahulu, sehingga penerapan metode ini dimaksudkan agar hasil yang diperoleh dapat dibandingkan dengan data yang telah dilaporkan sebelumnya. Dengan demikian, pemilihan dosis berdasarkan konsentrasi b/v merupakan langkah awal yang rasional sebelum kemudian dikonversi menjadi dosis mg/kgBB menjadi 10.400 mg/kgBB, 15.600 mg/kgBB, 23.400 mg/kgBB, 35.100 mg/kgBB (7).

Karena penentuan LD50 memerlukan satuan dosis yang terukur secara kuantitatif terhadap berat badan hewan uji, maka dosis ekstrak yang semula dinyatakan dalam persen (%) dikonversi menjadi miligram per kilogram berat badan (mg/kgBB). Perhitungan LD50 dalam uji toksisitas akut umumnya dinyatakan dalam satuan miligram per kilogram berat badan (mg/kgBB) karena satuan ini mencerminkan jumlah zat yang dibutuhkan untuk menyebabkan kematian pada 50% populasi hewan uji berdasarkan berat tubuhnya (10). Kemudian masing-masing ekstrak di induksikan pada hewan uji sesuai dengan konsentrasi dosis melalui pemberian secara oral menggunakan sonde, setelah 24 jam jumlah kematian hewan uji dihitung untuk mencari nilai f pada tabel Thomson-Weil. Hasil jumlah kematian hewan uji setelah perlakuan dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 3. Jumlah Kematian Hewan Uji

Kelompok dosis	Jumlah mencit	Jumlah kematian mencit (24 jam)
EEBH 10.400 mg/kgBB	6	0
EEBH 15.600 mg/kgBB	6	0
EEBH 23.400 mg/kgBB	6	3
EEBH 35.100 mg/kgBB	6	3

Jumlah kematian mencit setelah perlakuan secara berurutan adalah 0,0,3,3. jumlah kematian mencit kemudian digunakan untuk mencari nilai f pada tabel Thomson-Weil, nilai r diperoleh dari tabel Weil yang disusun berdasarkan jumlah

kelompok perlakuan dan jumlah hewan uji yang mati dalam setiap kelompok. Hasil uji toksisitas akut menunjukkan bahwa nilai LD50 ekstrak etanol beras hitam berada pada kategori tidak toksik yaitu 23.442 mg/kgBB (> 5000 mg/kgBB). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol beras hitam relatif aman dikonsumsi meskipun dalam dosis tinggi. Hasil uji toksisitas ini sejalan dengan penelitian terdahulu mengenai ekstrak etanol dedak beras hitam pada tikus (11).

Penelitian tersebut melaporkan bahwa pemberian ekstrak hingga dosis 2000 mg/kgBB tidak menimbulkan gejala toksisitas maupun kematian selama 14 hari pengamatan. Oleh sebab itu dapat di ambil kesimpulan bahwa beras hitam beserta produk olahannya relatif aman dikonsumsi. Terjadinya kematian pada dosis tinggi yaitu 23.400 mg/kgBB dan 35.100 mg/kgBB kondisi ini dapat dijelaskan bahwa meskipun suatu senyawa dinyatakan relatif aman secara statistik berdasarkan perhitungan LD50, bukan berarti sepenuhnya bebas dari risiko efek toksik, terutama bila diberikan dalam dosis sangat tinggi. Kematian yang terjadi pada hewan uji pada dosis tinggi diduga disebabkan oleh salah satu kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol beras hitam yaitu flavonoid.

Beras hitam diketahui mengandung senyawa bioaktif golongan flavonoid yang pada dasarnya bermanfaat sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker, tetapi pada konsentrasi tinggi dapat memicu stres oksidatif, kerusakan hati, ginjal, maupun gangguan metabolisme hormon (12). Mekanisme inilah yang diduga berkontribusi terhadap kematian mencit pada kelompok dosis tertinggi. Temuan ini sejalan dengan literatur yang melaporkan bahwa flavonoid seperti epigallocatechin gallate (EGCG) pada hewan percobaan dapat menyebabkan hepatotoksitas dan nefrotoksitas bila diberikan dalam jumlah berlebihan (12). Selain itu pada jurnal yang berjudul "Metabolit Sekunder Tumbuhan Sebagai Alat Pertahanan Terhadap Herbivora Untuk Perlindungan Tanaman Berkelanjutan".

Penelitian tersebut mengatakan bahwa fenolik dan tanin dapat mengikat protein pencernaan dan menghambat kerja enzim, sehingga menurunkan ketersediaan nutrisi dan energi bagi herbivora yang akhirnya menyebabkan kematian (13). Dengan demikian, kematian hewan uji pada penelitian ini sangat mungkin dipengaruhi oleh aktivitas toksik metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak, hasil penelitian ini menegaskan pentingnya penentuan batas dosis

aman, sebab meskipun LD50 menunjukkan kategori tidak toksik, paparan ekstrak beras hitam dalam jumlah besar tetap berpotensi menimbulkan efek yang merugikan hingga kematian pada hewan uji.

KESIMPULAN

Kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol beras hitam adalah flavonoid, tannin dan saponin. Konsentrasi ekstrak etanol beras hitam (EEBH) yang menyebabkan kematian pada hewan uji adalah 90% b/v dan 135 b/v. Hasil nilai LD50 ekstrak etanol beras hitam adalah 23.442 mg/kgBB yang masuk dalam kategori tidak toksik (>5000 mg/kgBB).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia Madiun, terutama kepada dosen pembimbing penulis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arifa, A. H., Syamsir, E., & Budijanto, S. (2021). Karakterisasi Fisikokimia Beras Hitam (*Oryza Sativa L.*) Dari Jawa Barat, Indonesia. *Agritech*, 41(1), 15. <https://doi.org/10.22146/Agritech.53307>
2. Pelotas, U. F., Federal, U., Maria, S., & Germano, T. (2024). *Makanan Makanan Fungsional Dari Beras Hitam (Tanaman Oryza Sativa L.): Tinjauan Umum Pengaruh Pengeringan, Penyimpanan, Dan Pemrosesan Terhadap Molekul Bioaktif Dan Efek Yang Meningkatkan Kesehatan*
3. Adiba, A., & Arini, F. (2022). *Literature Review: Efektivitas Beras Hitam (Oryza Sativa L. Indica) Sebagai Antidiabetes*. 1(3), 375–386..
4. Handayani, S. W., Susilo, D., Wardani, A. T., & Anggraeni, Y. M. (2022). *Uji Toksisitas Akut Nano insektisida Tembakau (Nicotiana Tabacum L.) Terhadap Mencit The Acute Toxicity Test Of Nano insecticide Of Tobacco (Nicotiana Tabacum L) By*
5. Parwanti, Nur Azizah, & Azmi Darotulmutmainah. (2023). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Anggur Merah (*Vitis vinifera Linn*) Menggunakan Metode Thomson Dan Weil Pada Tikus Putih Wistar (*Rattus norvegicus*). *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 14(1), 1–11. <https://doi.org/10.61902/cerata.v14i1.759>
6. Ayuwardani, N., & Kusumaningrum, A. D. (2024). Toksisitas Akut Ekstrak Daun *Moringa Oleifera*, Pemeriksaan Makroskopik Dan Mikroskopik Organ Liver Tikus Putih. *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 13(2), 228–235. <https://doi.org/10.30591/Pjif.V13i2.6129>
7. Indrisari, M., Nurkhairi, N., & Herdayanti, R. (2015). Uji Aktivitas Ekstrak Beras Hitam (*Oryza Sativa L*) Terhadap Penurunan Berat Badan Tikus (*Rattus Novergicus*). *Jurnal Farmasi Dan Bahan Alam: FARBAL*, 3(2), 38–40.

<https://journal-uim-makassar.ac.id/index.php/farbal/article/view/308>

8. Wulandari, Ayu. Patala, Recky. Mariyani. Prinasari, Rezan. (2025) Uji Toksisitas Akut Oral Ekstrak Etanol Akar Tanaman Bungkus (*Smilax rotundifolia* L.) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus nervegicus*)
9. Saepudin, S., Dewi, L., & Nurmalasari, R. (2024). *Skrining Fitokimia dari Tiga Tanaman Famili Asteraceae dengan Berbagai Pereaksi Kimia*. 13(3), 333–347.
10. Sulastra, C. S., Khaerati, K., & Ihwan. (2020). Toksisitas Akut Dan Lethal Dosis (Ld50) Ekstrak Etanol Uwi Banggai Ungu (*Dioscorea Alata* L.) Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(1), 10–14. <https://doi.org/10.36733/Medicamento.V6i1.715>
11. Arpornchayanon, W., Khonsung, P., & Chiranthanut, N. (2021). Aktivitas Gastroprotektif Ekstrak Etanol Dedak Beras.
12. Tang, Z., & Zhang, Q. (2022). *Potensi efek samping toksik dari flavonoid*. 46(357-366). <https://doi.org/10.32604/biocell.2022.015958>
13. Divekar, P. A., & Narayana, S. (2022). Metabolit Sekunder Tumbuhan Sebagai Alat Pertahanan Diri Herbivora untuk Perlindungan Tanaman Berkelanjutan