

UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL BATANG KAYU WOLE WOE TERHADAP LARVA *Artemia salina* Leach MENGGUNAKAN METODE *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

(*Toxicity Test of Ethanol Extract of Wole Woe Stem against Artemia salina Leach. Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method*)

Virsa Handayani^{1*}, Safriani Rahman², Andi Nur Alam Amaliah¹

¹Laboratorium Farmakognosi Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

²Laboratorium Biofarmasi dan Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

Email: virsa.handayani@umi.ac.id

ABSTRACT

Article Info:

Received: 2022-09-23

Review: 2022-10-10

Accepted: 2022-11-16

Available Online: 2022-12-01

Keywords:

Artemia salina Leach; Brine Shrimp Lethality Test (BSLT); Toxicity; Wole Woe.

Corresponding Author:

Virsa Handayani

Laboratorium Farmakognosi

Fitokimia

Fakultas Farmasi

Universitas Muslim Indonesia

Makassar

Indonesia

email:

virsa.handayani@umi.ac.id

The Wole Woe plant is one of the plants that is empirically used as traditional medicine by the Weda community in Central Halmahera Regency. The stem part of the Wole Woe plant is used to treat various diseases. This study aims to determine the toxicity of Wole Woe logs using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. This research was started by extracting Wole Woe logs using ethanol 70% solvent with the reflux method and then carried out phytochemical screening which showed that Wole Woe logs contained alkaloids, flavonoids, saponins, triterpenoids, and tannins compounds. Toxicity testing of Wole Woe wood stem ethanol extract against *Artemia salina* Leach larvae was divided into 5 test groups, namely 4 treatment groups (concentrations of 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, and 1000 ppm) and 1 control or comparison group (sea water). Each concentration was made in 3 vials containing 10 larvae of *Artemia salina* Leach. Observations were made by looking at the mortality of *Artemia salina* Leach larvae after 24 hours of treatment. The results of the study can be seen through probit analysis by calculating the LC_{50} value. The LC_{50} of the ethanol extract of Wole Woe logs is 453.942 ± 59.564 g/mL. This indicated that the ethanolic extract of Wole Woe logs had a toxic effect on *Artemia salina* Leach larvae because the LC_{50} value was < 1000 ppm.



Copyright © 2020 Journal As-Syifaa Farmasi by Faculty of Pharmacy, Muslim University. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

Published by:

Fakultas Farmasi

Universitas Muslim Indonesia

Address:

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI) Makassar, Sulawesi Selatan.

Email:

jurnal.farmasi@umi.ac.id

ABSTRAK

Tumbuhan wole woe adalah salah satu tumbuhan yang secara empiris digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Weda di Kabupaten Halmahera Tengah. Bagian batang dari tumbuhan wole woe ini dimanfaatkan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas dari batang kayu wole woe dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstraksi batang kayu wole woe menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode refluks kemudian dilakukan skrining fitokimia yang menunjukkan sampel batang kayu wole woe mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan tanin. Pengujian toksisitas ekstrak etanol batang kayu wole woe terhadap larva *Artemia salina* Leach dibagi menjadi 5 kelompok uji yaitu 4 kelompok perlakuan (konsentrasi 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm) dan 1 kelompok kontrol atau pembanding (air laut). Masing-masing konsentrasi dibuat dalam 3 vial yang dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach. Pengamatan dilakukan dengan melihat kematian larva *Artemia salina* Leach setelah perlakuan selama 24 jam. Hasil penelitian dapat dilihat melalui analisa probit dengan menghitung nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} dari ekstrak etanol batang kayu wole woe adalah $453,942 \pm 59,564$ $\mu\text{g/mL}$. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang kayu wole woe memiliki efek toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach karena nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

Kata kunci: *Artemia salina* Leach; *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT); Toksisitas; Wole Woe.

PENDAHULUAN

Toksisitas adalah studi tentang hakikat dan mekanisme efek toksik dari berbagai bahan terhadap makhluk hidup dan sistem biologi lainnya. Uji toksisitas penting dilakukan untuk memperkirakan derajat kerusakan yang dapat diakibatkan suatu senyawa terhadap material biologi maupun material nonbiologi.¹ Uji toksisitas umumnya ditujukan untuk mengetahui efek yang tidak dikehendaki dari suatu obat terutama terhadap penyakit kanker, gangguan jantung dan iritasi kulit atau mata. *United States of Food and Drug Administration* (FDA) menyatakan bahwa pengujian dilakukan terhadap suatu senyawa yang berpotensi sebagai obat atau toksik pada hewan.¹

Saat ini di Indonesia, sudah banyak penelitian di bidang kesehatan yang menggunakan bahan alam sebagai sumber utama pengobatannya. Hal tersebut didukung oleh keanekaragaman flora yang sangat banyak di Indonesia, dan hanya sedikit yang telah ditemukan manfaatnya untuk bidang kesehatan.² Tumbuhan wole woe adalah salah satu tumbuhan yang secara empiris digunakan

sebagai obat tradisional oleh masyarakat Weda di Kabupaten Halmahera Tengah. Bagian batang dari tumbuhan wole woe ini dimanfaatkan untuk mengobati berbagai macam penyakit, antara lain kista, keputihan, diabetes melitus, luka, disentri, kolesterol, asam urat dan kanker payudara (mammary).

Untuk mengetahui toksisitas dari batang kayu wole woe, maka perlu dilakukan uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan hewan uji yaitu larva *Artemia salina* Leach.³

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah uji sederhana untuk mengetahui adanya aktivitas farmakologis dari suatu ekstrak bahan alam. Metode ini memiliki beberapa kelebihan, yaitu, cepat, murah, sampel yang dibutuhkan relatif sedikit dan sederhana. BSLT dimanfaatkan sebagai uji pendahuluan sebelum dilanjutkan ke tahap uji yang lebih rumit untuk kegiatan farmakologis tertentu. Dengan menggunakan metode BSLT ini juga akan diketahui batas keamanan penggunaannya untuk tujuan pengobatan.⁴ Apabila LC_{50} menggunakan metode BSLT

pada ekstrak tanaman bersifat toksik maka dapat dikembangkan sebagai obat yang akan digunakan untuk pengobatan kanker.⁵ Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian sebagai skrining awal untuk menguji toksisitas dari ekstrak etanol batang kayu wole woe terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan melihat nilai *Lethal Concentration 50%* (LC₅₀).

METODE PENELITIAN

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol batang kayu wole woe dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 200 gram batang kayu wole woe kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama dengan pelarut etanol 70% sebanyak 700 mL. Selanjutnya, sampel dipanaskan menggunakan alat refluks selama 6 jam. Hasil penguapan dari cairan ekstraksi akan terkondensasi pada kondensor menjadi molekul- molekul cairan yang akan turun kembali ke dalam labu alas bulat. Setelah selesai kemudian disaring dan dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator. Proses ekstraksi batang kayu wole woe dilakukan sebanyak 16 kali menggunakan 800 gram batang kayu wole woe dan 11.200 mL etanol 70%.⁶

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid. Ekstrak etanol batang kayu wole woe sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu diencerkan dengan etanol 70%. Kemudian, ditambahkan 5 tetes HCl 2N, lalu dipanaskan dan disaring. Selanjutnya, dipipet 1 mL filtrat dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan pereaksi dragendorf, pereaksi mayer dan pereaksi wagner.⁷ Terbentuknya endapan artinya sampel tersebut

positif mengandung alkaloid. Reaksi dengan pereaksi mayer akan terbentuk endapan berwarna putih, reaksi dengan pereaksi dragendorf terbentuk endapan berwarna merah jingga dan reaksi dengan pereaksi wagner terbentuk endapan berwarna coklat.⁷

Uji Flavonoid. Ekstrak etanol batang kayu wole woe sebanyak 1 mL dicampur dengan 3 mL etanol 70%, lalu dikocok dan dipanaskan, kemudian dikocok lagi setelah itu disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah serbuk Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna orange, merah, atau kuning menunjukkan positif flavonoid.⁷

Uji Steroid/Triterpenoid. Ekstrak etanol batang kayu wole woe sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL etanol 70% lalu dikocok. Selanjutnya, ditambahkan 2 tetes asetat anhidrat dan 2 tetes H₂SO₄ kedalam filtrat, dinyatakan positif steroid jika menghasilkan warna biru atau hijau, sedangkan positif triterpenoid jika menghasilkan warna merah atau ungu.⁷

Uji Saponin. Ekstrak etanol batang kayu wole woe sebanyak 1 mL dididihkan menggunakan 10 mL air dalam penangas air. Filtrat kemudian dikocok dan didiamkan. Sampel positif mengandung saponin bila terbentuk buih setinggi 1 cm selama tidak kurang dari 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang.⁷

Uji Tanin. Ekstrak etanol batang kayu wole woe sebanyak 1 mL ditambahkan beberapa tetes (2-3 tetes) FeCl₃, apabila berwarna hijau kehitaman artinya sampel positif mengandung tannin pirogalol, dan apabila dihasilkan warna hijau artinya sampel positif mengandung tannin katekol.⁷

Pengujian dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Penyiapan Larva

Telur *Artemia salina* Leach ditimbang sebanyak ± 50 mg kemudian dimasukkan ke dalam bejana penetas yang diberi sekat sehingga memiliki dua sisi ruang, yaitu sisi terbuka dan sisi tertutup (gelap). Bejana penetas diisi dengan air laut yang telah disaring dengan kertas *whatman* kemudian dimasukkan aerator dan disinari dengan lampu pijar. Setelah 24 jam, telur yang telah menetas menjadi nauplii di pindahkan ke tempat lain, dan 24 jam kemudian nauplii tersebut diberikan suspensi ragi sebagai bahan makanan dan bisa digunakan sebagai hewan uji.⁸

Pembuatan Larutan Stok

Larutan stok yang digunakan dibuat dengan cara ditimbang 100 mg ekstrak etanol batang kayu wole woe yang dilarutkan dalam 2 mL air laut. Jika sampel tidak larut atau sukar larut, maka ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) 1% sebanyak 0,1-50 μ g atau 2 tetes saja dan ditambahkan air laut hingga volumenya mencapai 50 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok 2000 ppm.⁸

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji ekstrak etanol batang kayu wole woe dibuat dalam konsentrasi 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Untuk membuat konsentrasi 250 ppm, dipipet sebanyak 1,25 mL larutan stok, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Untuk membuat konsentrasi 500 ppm, dipipet sebanyak 2,5 mL larutan stok, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Untuk membuat konsentrasi 750 ppm, dipipet sebanyak 3,75 mL larutan stok, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL. Untuk membuat konsentrasi 1000 ppm, dipipet

sebanyak 5 mL larutan stok, kemudian dicukupkan volumenya hingga 10 mL.⁸

Pengujian Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan pada masing-masing kelompok ekstrak sampel yang dibagi menjadi 5 kelompok uji yaitu 4 kelompok perlakuan (konsentrasi 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm) dan 1 kelompok kontrol atau pembanding (air laut). Setiap konsentrasi ekstrak sampel dibuat dalam 3 vial. Selanjutnya, pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach ke dalam vial. Kontrol dimasukkan 5 mL air laut tanpa larutan uji. Kemudian, pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach lalu dihitung jumlah larva yang mati dari tiap vial kemudian dilanjutkan dengan analisa probit untuk menentukan nilai LC_{50} .⁸

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini telah dilakukan uji toksisitas ekstrak etanol batang kayu wole woe terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk skrining tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker karena lebih murah, singkat, mudah dikembangkan serta tidak ada aturan etika dalam penggunaan bahan uji.⁹ Prinsip metode BSLT berdasarkan pada senyawa aktif dan sifat toksiknya yang dapat membunuh larva *Artemia salina* Leach.¹⁰

Penelitian ini telah dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu penyiapan alat dan bahan, pengambilan dan pengolahan sampel, ekstraksi sampel, skrining fitokimia, dan uji toksisitas. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol batang kayu wole woe. Ekstraknya diperoleh melalui proses

ekstraksi menggunakan metode panas yaitu metode refluks dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Metode refluks digunakan untuk mengekstraksi simplisia yang tahan terhadap pemanasan dan yang memiliki tekstur kasar

dan keras seperti batang, biji, akar.¹¹ Pada penelitian ini, setelah dilakukan proses ekstraksi kemudian dihitung persen rendamen yang diperoleh dari ekstraksi sampel.

Tabel 1. Hasil perhitungan persen rendamen ekstrak etanol batang kayu wole woe.

Sampel	Pelarut etanol 70% (mL)	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Rendamen ekstrak (%) (b/b)
Ekstrak etanol batang kayu wole woe	11.200	800	49,6	6,2

Berdasarkan tabel diatas, hasil perhitungan persen rendamen yang diperoleh dari ekstraksi batang kayu wole woe adalah sebesar 6,2%. Perhitungan persen rendamen dilakukan agar dapat mengetahui persentase jumlah bahan yang tersisa dari hasil proses ekstraksi dan juga untuk mengetahui tingkat keefektifan dari proses yang dihasilkan.¹² Nilai rendamen berkaitan dengan banyaknya kandungan senyawa bioaktif yang terkandung dalam batang kayu wole woe. Senyawa bioaktif merupakan suatu senyawa yang terkandung dalam tubuh hewan maupun tumbuhan,

senyawa bioaktif memiliki berbagai macam manfaat bagi kehidupan manusia, di antaranya dapat dijadikan sebagai sumber antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker.¹³

Komponen kimia dari batang kayu wole woe dapat dilihat dengan melakukan uji skrining fitokimia. Uji skrining fitokimia merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa yang terdapat dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji.¹³ Pada penelitian ini dilakukan uji skrining fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, dan tanin.

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia sampel batang kayu wole woe

Uji	Pereaksi	Ekstrak etanol batang kayu wole woe	Pustaka
Alkaloid	Sampel + Pereaksi mayer	Positif (+) terbentuk endapan putih	Penambahan pereaksi mayer positif jika terbentuk endapan berwarna putih, penambahan pereaksi dragendorf positif jika terbentuk endapan berwarna merah jingga dan penambahan pereaksi wagner positif jika terbentuk endapan berwarna coklat. ⁷
	Sampel + Pereaksi dragendorf	Positif (+) terbentuk endapan merah jingga	
Flavonoid	Sampel + Serbuk Mg 0,1 gram dan 2 tetes HCl pekat	Positif (+) berwarna merah	Penambahan 0,1 gram serbuk Mg dan 2 tetes HCl pekat positif jika terbentuk warna orange, merah atau kuning. ⁷
Saponin	Sampel + 10 mL air panas dalam penangas air + 1 tetes HCl 2 N	Positif (+) setelah penambahan HCl 2 N terbentuk buih	Penambahan air panas positif jika terbentuk buih dan buih tidak hilang setelah penambahan HCl 2 N. ⁷
Terpenoid dan steroid	Sampel + 2 tetes asetat anhidrat dan 2 tetes H ₂ SO ₄	Positif (+) triterpenoid berwarna merah	Penambahan 2 tetes asetat anhidrat dan 2 tetes H ₂ SO ₄ positif steroid jika terbentuk warna biru atau hijau, positif triterpenoid jika terbentuk warna merah atau ungu. ⁷
Tanin	Sampel + 2 tetes FeCl ₃	Positif (+) tanin pirogalol berwarna hijau kehitaman	Penambahan 2-3 tetes FeCl ₃ positif tanin pirogalol jika terbentuk warna hijau kehitaman, positif tanin katekol jika terbentuk warna hijau. ⁷

Berdasarkan tabel diatas, hasil uji skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol batang kayu wole woe, diperoleh komponen senyawa aktif yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin. Kemampuan ekstrak

etanol batang kayu wole woe dalam membunuh larva *Artemia salina* Leach dapat dilihat dengan cara pengujian toksisitas ekstrak etanol batang kayu wole woe menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Tabel 3. Data hasil pengamatan kematian larva *Artemia salina* Leach selama 24 jam dari ekstrak etanol batang kayu wole woe menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Sampel Uji	Replikasi	Jumlah larva udang yang mati tiap seri konsentrasi larutan sampel uji				
		250 ppm	500 ppm	750 ppm	1000 ppm	Kontrol
Ekstrak etanol batang kayu wole woe	1	3	5	7	8	0
	2	3	5	6	8	0
	3	3	6	6	8	0
Total kematian		9	16	19	24	0
% kematian		30	53,33	63,33	80	-
Nilai Probit		4,48	5,08	5,33	5,84	-

Berdasarkan tabel diatas, hasil pengamatan uji toksisitas ekstrak etanol batang kayu wole woe menunjukkan bahwa semua seri konsentrasi menyebabkan kematian pada larva kecuali kelompok kontrol yang berisi air laut. Pada konsentrasi 1000 ppm menyebabkan rata-rata kematian larva tertinggi, sedangkan pada konsentrasi 250 ppm menyebabkan kematian larva terendah. Konsentrasi yang berbeda pada setiap vial uji memiliki jumlah kematian larva yang berbeda-beda, hal tersebut menunjukkan bahwa setiap tingkat konsentrasi memiliki pengaruh berbeda terhadap kematian larva. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka semakin tinggi juga jumlah total kematian larva.¹⁴

Kematian larva *Artemia salina* Leach diduga disebabkan karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman tersebut. Senyawa yang terkandung didalam ekstrak etanol batang kayu wole woe adalah alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin. Senyawa flavonoid diperkirakan memiliki peran terbesar, karena

pada kadar tertentu senyawa flavonoid memiliki tingkat toksisitas akut. Selain flavonoid, metabolit sekunder lainnya juga memiliki peran besar terhadap timbulnya aktivitas toksik yang terdapat pada ekstrak etanol batang kayu wole woe yang bertindak sebagai racun perut, apabila senyawa-senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva, maka alat pencernaan larva akan terganggu dan dapat menyebabkan kematian pada larva.¹⁰

Nilai y dapat ditentukan dengan cara membuat grafik persamaan regresi linear dari data yang telah diperoleh untuk menghitung nilai LC₅₀. Persamaan regresi linear yang dihasilkan pada ekstrak etanol batang kayu wole woe digunakan untuk menentukan nilai *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) pada ekstrak etanol batang kayu wole woe dilakukan dengan menggunakan analisa probit. Analisa probit merupakan analisa yang digunakan pada pengujian toksisitas dari suatu bahan kimia terhadap organisme hidup.¹² Rohmah *et al* 2019¹⁵ menyatakan bahwa dalam penentuan nilai LC₅₀, ekstrak sampel dikatakan toksik apabila nilai LC₅₀ yang diperoleh adalah <1000

ppm. Berdasarkan hasil analisa probit, nilai LC_{50} ekstrak etanol batang kayu wole woe sebesar $453,942 \pm 59,564 \mu\text{g/mL}$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang kayu wole woe bersifat toksik.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol batang kayu wole woe bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol batang kayu wole woe terhadap larva *Artemia salina* Leach. sebesar $453,942 \pm 59,564 \mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia yang telah memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sasmito WA, Wijayanti AD, Fitriana I, Sari PW. Pengujian Toksisitas Akut Obat Herbal Pada Mencit Berdasarkan Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD). *Jurnal Sain Veteriner*. 2015; 33(2):234–239
2. Alfarabi M, Fauziyuningtias A. Analisis Nilai Toksisitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) . *Natural Science: Journal of Science and Technology*. 2017; 6(2):153–158
3. Tekha KN, Erwin, Kartika R. Uji Toksisitas Ekstrak Kelopak Jantung Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn.) dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 2015; 13(1):19–22
4. Susilowati F. Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Ekstrak Etil Asetat Spons *Calthropella sp.* Asal Zona Intertidal Pantai Krakal Gunung Kidul Yogyakarta. *Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*. 2017; 1(1):1–5
5. Lestari D, Kartika R, Marlina E. Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Umbi Bawang Tiwal (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 2019; 1(1):1–10
6. Kusuma IJ di, Prasetyorini, Wardatun S. Toksisitas Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Dengan Perbedaan Metode dan Jenis Pelarut Berbeda. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*. 2015; 1(1):1–8
7. Zulfiah Z. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletakan (*Ruellia tuberosa* L) Dengan Pelarut Etanol dan n-Heksan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*. 2020; 6(1):5–11
8. Handayani V et al. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Terpurifikasi Biji Mahoni (*Switenia mahagoni*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2019; 6(2):360–362
9. Ningdyah AW, Alimuddin AH, Jayuska A. Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2015; 4(1):75–83
10. Fatimah R, Santoso BSA. Toksisitas Akut Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*. 2020; 3(2):47–52
11. Lamadjido SR, Umrah U, Jamaluddin J. Formulasi dan Analisis Nilai Gizi Bakso Kotak Dari Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*. 2019; 5(2):166–174
12. Senduk TW, Montolalu LADY, Dotulong V. The Rendement of Boiled Water Extract of Mature Leaves of *Mangrove sonneratia* Alba. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*. 2020; 11(1):9–15
13. Dewatisari WF, Rumiyantri L, Rakhmawati I. Rendemen Dan Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Daun *Sansevieria sp.* *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 2018; 17(3):197
14. Supriningrum R, Sapri S, Pranamala VA. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar KB (*Coptosapelta tomentosa* Valetton Ex K.Heyne) Dengan Metode *Brine Shrimp*

Lethality Test (BSLT). Jurnal Ilmiah Manuntung. 2017; 2(2):161–165

(*Lactuca sativa* Var. *Crispa*) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi. *Jurnal Kimia Riset*. 2019; 4(1):18–32

15. Rohmah J, Rini CS, Wulandari FE. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah