

AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N-HEXAN KAYU BETA-BETA DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*

Hasnaeni^{1*}, Mamat Pratama², Fidyah Lisa Aslindah¹

¹Laboratorium Farmakognosi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Kampus II UMI, Jl. Urip Sumoharjo No.225, Panaikang, Panakkukang, Kota, Makassar, Panaikang, Kec. Panakkukang, Makassar, Sulawesi Selatan 90231, Indonesia

²Laboratorium Kimia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Kampus II UMI, Jl. Urip Sumoharjo No.225, Panaikang, Panakkukang, Kota, Makassar, Panaikang, Kec. Panakkukang, Makassar, Sulawesi Selatan 90231, Indonesia

*hasnaeni.hasnaeni@umi.ac.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian dengan sampel kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) famili *Rutaceae*. Penelitian ini dilakukan dengan pengujian sitotoksisitas Fraksi n-Hexan kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Uji sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan *Artemia salina* Leach. Pengujian ini dilakukan dengan membagi ke dalam kelompok perlakuan yakni kelompok ekstrak uji dengan 5 variasi konsentrasi (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm) dan kelompok kontrol. Dilakukan 3 kali pengulangan. Larva yang mati akan dihitung setelah 24 jam perlakuan, dilanjutkan dengan analisis probit untuk menentukan nilai LC_{50} . Hasil uji BSLT Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) yang diperoleh yakni 26,001 ppm. Pada penelitian ini diketahui toksisitas fraksi n-Hexan dari tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) memperlihatkan toksisitas yang sangat toksik dengan nilai LC_{50} adalah 26,001 $\mu\text{g/ml}$.

Kata kunci: *brine shrimp lethality test*; kayu beta-beta; uji toksisitas

CYTOXIC ACTIVITY OF N-HEXAN FRACTION BETA-BETA WOOD WITH BRINE SHRIMP LETHALITY TEST

ABSTRACT

The sample used in this research was *Lunasia amara* Blanco from the family *Rutaceae*. The research aimed to determine the toxic effects of n-Hexan fraction of *Lunasia amara* Blanco on *Artemia salina* Leach shrimp larvae. The toxicity assay was performed using the BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method using *Artemia salina* Leach. This assay was done using 2 groups. The treatment group which was using 5 variation of concentration (10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, and 1000 ppm) and the sea water control group which was performed 3 times. Dead larvae were counted after 24 hours of the treatment. After that, it was proceeded with probit analysis to determine the LC_{50} value. BSLT test of *Lunasia amara* Blanco resulted in obtaining 26,001 ppm. The toxicity of the n-Hexan fraction of *Lunasia amara* Blanco in this study a highly toxic with a value of $LC_{50} = 26,001 \mu\text{g/ml}$.

Keywords: *brine shrimp lethality test*; *lunasia amara blanco*; toxicity test

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah mengenal pengobatan tradisional dengan menggunakan tanaman berkhasiat yang didasarkan pada pengalaman yang lama dan diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya (Purnomo, 2015). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat ialah kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). Kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) biasanya digunakan oleh masyarakat sebagai penghilang radang atau inflamasi, hal tersebut diperkuat dengan adanya hasil penelitian dari Hasnaeni (Hasnaeni *et al*, 2016) yang menyatakan bahwa kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) memiliki efek anti radang.

Menurut Ludavina S. De Padua (1978) kayu tumbuhan ini mengandung senyawa alkaloid berupa *lunacridine*, *lunasine*, dan *lunanine* (Alyidrus, R, Subehan, Amin, A 2018).

Penggunaan obat dari bahan alam tidak sepenuhnya aman, sehingga perlu diketahui potensi ketoksikannya. Toksisitas suatu bahan dapat diartikan sebagai kemampuan suatu bahan dalam memberikan efek racun atau kerusakan terhadap organisme hidup (Supriyono, 2007). satu pengujian secara invitro yaitu dengan menggunakan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT memiliki prosedur yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan biaya yang besar, serta hasilnya akurat (Frengki, Roslizawati & Pertiwi, D 2014). Kanker menjadi salah satu penyakit dengan presentase kematian terbesar ke tiga di Indonesia. Kanker termasuk penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker (Djamil, R & Anelia, T 2009). Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi sitostatik, tujuannya untuk membunuh sel-sel kanker, namun masih dapat menimbulkan efek samping seperti kerontokan pada rambut dan kulit menghitam (Ramdhinni, 2010) Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian terhadap fraksi n-Hexan dari tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) sebagai tahap untuk membuktikan adanya efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aerator, botol semprot, cawan porselin, corong, corong pisah, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, mikropipet, seperangkat alat penetasan telur, rotavapor, statif, timbangan analitik, pipet tetes, toples dan vial. Penelitian ini telah dilakukan berdasarkan persetujuan/rekomendasi etik yang dikeluarkan oleh Komisi etik penelitian kesehatan Universitas Muslim Indonesia dan Rumah sakit Ibnu Sina YW-UMI (KEPK UMI dan RSIS YW-UMI) dengan nomor registrasi UMI012003072. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut, AlCl₃, aluminium foil, kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco), dimetil sulfoksida (DMSO) 1%, dragendorff, etil asetat, FeCl₃, kertas saring, HCl, telur udang *Artemia salina* Leach, metanol (70%), NaOH, n-Hexan dan ragi.

Prosedur Kerja

Ekstraksi Sampel

Sampel batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) diperoleh dari kabupaten Barru provinsi Sulawesi Selatan. Sampel yang telah didapatkan selanjutnya dikumpulkan kemudian kulit kayu dipisahkan dari batangnya, sampel dibersihkan selanjutnya dilakukan perajangan atau sampel dipotong kecil-kecil kemudian di keringkan dengan cara di angin-anginkan (tidak terkena sinar matahari langsung), selanjutnya dilakukan sortasi kering kemudian diserbukkan menjadi serbuk. Sampel yang telah diserbukkan kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut metanol dengan menggunakan metode refluks. Ditimbang seksama 300 gram serbuk simplisia batang kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco), dimasukkan kedalam labu alas bulat 1000 mL, ditambahkan 1500 mL metanol 70%, direfluks pada suhu 40°C selama 3 jam, diangkat dan disaring. Lalu dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Identifikasi Metabolit Sekunder dengan KLT

Pada penelitian digunakan beberapa lempeng KLT silica gel 60 F₂₅₄ dengan ukuran 7x1 cm. kemudian ekstrak ditotolkan pada lempeng dan dielus dengan eluen N-heksan : Etil asetat (2:8) kemudian di amati pada lampu UV 254 dan 366 nm. Kemudian disemprotkan dengan perekasi yang sesuai.

a. Alkaloid

Identifikasi dengan metode kromatografi lapis tipis, noda di amati dengan sinar UV 254 nm kemudian deteksi bercak dengan menyemprot pereaksi Dragendorff. Bercak yang menandakan adanya alkaloid adalah bercak warna jingga (Wullur, AC, Schadu, W, Wardhani ANK)

b. Flavonoid

Setelah di elusi, lempeng KLT di keringkan dan di semprot dengan pereaksi $AlCl_3$. Positif flavonoid apabila menghasilkan noda biru (Ritna, A, Anam, S, & Khumaidi, A, 2016).

c. Tannin

Lempeng yang telah dielusi kemudian disemprot dengan penampak noda pereaksi $FeCl_3$ 5%. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam (Yuda, PESK, Cahyaningsih, E, Winariyanthi, NLPY, 2017).

d. Fenolik

Uji pendahuluan dilakukan dengan menyemprot lempeng KLT dengan penampak bercak $FeCl_3$ digunakan untuk mendeteksi senyawa golongan fenol. Positif fenolik apabila menghasilkan warna hijau, merah, coklat, ungu, biru atau hitam yang kuat (Santosa, D, Heresmita, PP, 2015).

Identifikasi Metabolit Sekunder dengan Tabung Reaksi**a. Alkaloid**

Ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditetesi HCl 0,5 N dan pereaksi Dragendorff, jika mengandung alkaloid akan menghasilkan endapan jingga [11].

b. Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak di masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian di tambahkan dengan NaOH. Jika terjadi perubahan warna maka positif mengandung flavonoid (Gafur, MA, Isa, I, Bialangi, N).

c. Tanin

Ekstrak ditambahkan $FeCl_3$ akan memberikan endapan biru-hitam pada tannin terhidrolisis dan memberikan endapan hitam kehijauan tannin terkondensasi (Ryanata, E, 2014).

d. Fenolik

Ekstrak 100 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan pelarut metanol secukupnya, lalu ditambahkan 3 tetes larutan $FeCl_3$. Terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru, dan hitam yang kuat menunjukkan adanya senyawa fenol dalam bahan.

Pengujian *Brine Shrimp Lethality Test***a. Pemilihan telur *Artemia salina* Leach**

Pemilihan telur udang dilakukan dengan merendam telur dalam air laut selama satu jam, telur yang baik akan mengendap sedangkan telur yang kurang baik akan mengapung (Alimuddin, A, H, Jayuska, A & Ningdiyah, A, W, 2015).

b. Penyiapan larva

Air laut sebanyak 1 L dimasukkan kedalam wadah yang terdiri dari dua bagian yaitu bagian gelap dan terang yang dilengkapi dengan lampu pijar, penutup dan aerator. Telur udang dimasukkan kedalam bagian gelap pada wadah dan dibiarkan selama 48 jam, maka telur akan

menetas menjadi larva dan bergerak ke bagian terang pada wadah. Larva inilah yang akan digunakan sebagai hewan percobaan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada penelitian ini (Salim, E, Hasnirwan, Sartika, 2018).

c. Pengujian Toksisitas

Larutan stok dibuat dengan menimbang 100 mg sampel yang dilarutkan dalam 2 mL aquades. Jika sampel tidak larut atau sukar larut, ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) 1% sebanyak 0,1-50 µg atau 2 tetes saja dan di tambahkan aquadest hingga volumenya mencapai 100 mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok 1000 ppm. Larutan stok selanjutnya dibuat konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Setiap konsentrasi ekstrak sampel di buat dalam 3 kali replikasi. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach ke dalam vial. Untuk kontrol negatif dimasukkan 10 mL air laut tanpa larutan uji. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva *Artemia salina* kemudian dihitung jumlah larva yang mati dari tiap vial lalu dilanjutkan dengan analisa probit untuk menentukan LC_{50} .

d. Pengumpulan dan Analisis Data

Untuk mencari hubungan antara konsentrasi larutan ekstrak uji dengan respon kematian larva udang *Artemia salina* Leach, maka masing-masing sampel uji dianalisis menggunakan analisis probit. Dimana larutan ekstrak yang diuji dikatakan mempunyai efek toksik apabila nilai LC_{50} $y = a + bX$ kurang dari 1000 µg/mL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode refluks. Ekstraksi refluks digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang tahan terhadap pemanasan dan memiliki tekstur yang kasar seperti batang, biji, akar. Prinsip metode refluks adalah pelarut yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan oleh kondensor sehingga pelarut dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun ke wadah sehingga pelarut akan melarutkan kembali senyawa organik yang ada dalam sampel. Proses ini terjadi secara terus menerus sampai proses reaksi sempurna (Susanty & Bachmid 2016, h. 90). Ramuan kulit batang digunakan untuk mengatasi diare, nyeri, dan anti bisa ular di Filipina (Macebeo A P G, and Aguinaldo A.M., 2008). Adapun pelarut yang digunakan pada metode ini yaitu metanol karena pelarut ini hampir melarutkan senyawa organik yang ada pada sampel, mudah menguap sehingga mudah dihilangkan dari ekstrak (Andayani, 2008). Sebanyak 300 gr serbuk sampel kemudian direfluks dengan menggunakan 1500 mL pelarut metanol 70 %. Setelah diuapkan diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 5,94 gr. kemudian di fraksinasi. Berat fraksi n-Hexan yang diperoleh yakni 2,95 gr yang mana dapat di lihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1.
Hasil Fraksinasi n-Hexan Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco)

Sampel	Berat ekstrak	Volume pelarut (n-Heksan)	Berat Fraksi n-Hexan
Kayu beta-beta (<i>Lunasia amara</i> Blanco)	5,94 gr	30 mL	2,95 gr

Ekstrak yang telah di fraksinasi selanjutnya di lakukan uji identifikasi dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan menggunakan tabung reaksi. Tujuan dilakukan identifikasi adalah untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat dalam sampel kayu *L.amara*. Untuk metode KLT digunakan eluen n-heksan dan etil asetat (2 : 8). Pemilihan eluen dan perbandingannya di dapatkan berdasarkan prinsip coba-coba (*trial and error*), yang

mana jika eluen dan pembanding yang di dapatkan belum dapat mengelusi noda maka dilakukan pengubahan pembanding dan eluen. Hasil untuk masing-masing metode pengujian dapat dilihat pada tabel 2 dan 3 berikut.

Tabel 2.

Hasil Identifikasi Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sampel	Senyawa yang diujikan	Hasil perhitungan Nilai Rf		Pustaka
		Pada UV 366 nm	Setelah penambahan reagen	
Kayu Beta-beta (<i>Lunasia amara</i> Blanco)	Alkaloid	2,2	+	Ekstrak + Dragendorff = bercak jingga (Wullur, Schaduw & Wardhani, h.55). Ekstrak + AlCl ₃ = noda biru (Ritna, Anam & Khumaidi 2016, h. 88). Ekstrak + FeCl ₃ = warna hijau, merah, coklat, ungu, biru atau hitam yang kuat (Santosa dan haresmita 2015, h. 29-30) Ekstrak + FeCl ₃ = noda berwarna hitam (Yuda, Aningsih & Winariyanthi 2017, h. 63).
		1,57	-	
	Flavonoid	1,66	-	
		1,41	-	
	Fenolik	1,66	-	
		1,37	-	
	Tannin	1,41	-	
		1,66	-	

Tabel 3.

Data Hasil Uji Identifikasi Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco) Dengan Uji Tabung.

Sampel	Jenis Pengujian	Hasil	Pustaka
Kayu Beta-beta (<i>Lunasia amara</i> Blanco)	Alkaloid	+	Ekstrak + Dragendorff = endapan jingga (Syarif et al., 2015, h.84)
	Flavonoid	+	Ekstrak + NaOH = terjadi perubahan warna (Gafur, Isa & Bialangi, h. 4).
	Fenolik	+	Ektrak + FeCl ₃ = warna hijau, merah, ungu, biru, dan hitam yang kuat (Alfian & Susanti 2012, h. 75)
	Tanin	+	Ektrak + FeCl ₃ = endapan hitam kehijauan (Ryanata 2014, h. 4)

Keterangan : + (positif)
- (negatif)

Beberapa penelitian terhadap senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker membutuhkan biaya yang cukup besar, oleh karena itu pengujian dengan *Artemia salina* Leach ini di gunakan sebagai uji pendahuluan. Uji toksisitas dengan metode BSLT merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui adanya bioaktivitas`dari sampel (Zuraida, 2018, h. 243). Apabila dalam pengujian menggunakan *Artemia salina* ini memperlihatkan hasil yang cukup baik, maka dapat dilakukan pengujian lebih lanjut Keuntungan dari uji ini yaitu cepat, mudah, hasilnya dapat diulang, serta tidak membutuhkan biaya yang mahal. Hasil uji ini dinyatakan dengan *Lethal Concentration 50 (LC₅₀)*, yakni konsentrasi optimum ekstrak yang mampu membunuh 50% populasi larva *Artemia salina* Leach. Nilai LC₅₀ yang semakin

rendah menunjukkan efek yang semakin tinggi Tingkat toksisitas suatu ekstrak adalah sebagai berikut: $LC_{50} \leq 30$ mg/L = Sangat toksik; $LC_{50} \leq 1.000$ mg/L = Toksik; $LC_{50} > 1.000$ mg/L = Tidak toksik (Zuraida, 2018).

Hasil sampel yang diujikan, fraksi n-Hexan kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) memiliki efek toksik, hasil dapat di lihat pada (tabel. 4). Pada tabel diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dalam larutan uji semakin besar jumlah kematian udang *Artemia salina* Leach. Total kematian larva diperoleh dengan menjumlahkan larva yang mati pada setiap konsentrasi. Uji toksisitas Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dilakukan untuk mengetahui tingkat ketoksikan dari sampel. Pengujian ini dilakukan dengan beberapa konsentasi yakni 10, 50, 100, 250, 500, dan 1000 ppm, masing-masing konsentrasi. Kontrol yang digunakan yakni air laut (tanpa diberikan ekstrak). Kontrol air laut bertujuan untuk menyakinkan bahwa kematian larva *Artemia salina* Leach disebabkan oleh pemaparan komponen bioaktif dari ekstrak.

Tabel 4.
Data Hasil Pengamatan BSLT

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi	Replikasi	Jumlah larva mati	% kematian	Rata-rata % kematian	probit
0	-	1	0	0 %	0 %	-
		2	0	0 %		
		3	0	0 %		
10	1	1	4	40 %	30 %	4,48
		2	5	50 %		
		3	3	30 %		
50	1,69	1	8	80 %	67 %	5,44
		2	7	70 %		
		3	5	50 %		
100	2	1	8	80 %	80 %	5,84
		2	9	90 %		
		3	7	70 %		
250	2,39	1	9	90 %	93 %	6,48
		2	10	100 %		
		3	9	90 %		
500	2,69	1	10	100 %	97 %	6,88
		2	10	100 %		
		3	9	90 %		
1000	3	1	10	100 %	100 %	8,09
		2	10	100 %		
		3	10	100 %		

Kontrol dengan air laut diperoleh % kematian 0% yang menunjukkan bahwa kematian larva udang berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) seperti alkaloid, flavonoid, fenolik dan tannin yang dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*). Menurut Cahyadi (2009) cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva

mati kelaparan. Hasil uji toksistas fraksi n-Hexan dari kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) memiliki efek yang sangat toksik dengan nilai $LC_{50} = 26,001 \mu\text{g/ml}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi n-Hexan dari kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco) memiliki potensi sebagai antikanker dimana semakin kecil nilai LC_{50} maka semakin toksik suatu senyawa dan berpotensi sebagai antikanker.

SIMPULAN

Fraksi n-Hexan dari Kayu Beta-beta (*Lunasia amara*) dengan pengujian BSLT memiliki toksisitas yang sangat toksik dengan nilai $LC_{50} = 26,001 \mu\text{g/ml}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Alyidrus, R, Subehan, Amin, A 2018, 'Isolasi Fraksi Lunacridine Pada Ekstrak Metanol Kayu Sanrego (*Lunasia Amara* Blanco) Menggunakan Kromatografi Kolom', *Jurnal JF FIK UINAM*, vol. 6, no. 2, h. 57.
- Alimuddin, A, H, Jayuska, A & Ningdiyah, A, W, 2015, 'Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*)', *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 4(1).
- Andayani, R., 2008, Penentuan Aktivitas Antioksidan Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L.), *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, vol. 13, no. 1.
- Djamil, R & Anelia, T 2009, 'Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies Papilionaceae', *Jurnal Ilmu Kesehatan Kefarmasian*, Vol. 7, no. 2, h. 65,68.
- Frengki, Roslizawati & Pertiwi, D 2014, 'Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Sarang Semut Lokal Aceh (*Mymercodia* sp.) dengan Metode BSLT Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach', *Jurnal Medica Veterinaria*, Vol. 8, no. 1, hh. 60-61
- Gafur, MA, Isa, I, Bialangi, N, 'Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dari Daun Jamblang (*Syzygium Cumini*)', h. 4
- Hasnaeni et al, 2016. 'Kajian Efek Anti Radang Kayu Beta-beta (*Lunasia amara* Blanco)', *PHARMACON Jurnal Imiah Farmasi*, vol. 5, no. 2.
- Macebeo A P G, and Aguinaldo A.M., 2008, 'Chemical and Phytomedicinal investigation in *Lunasia amara*, *pharmacognosy*', *Reviews*, vo, 2, no. 4, h. 317-322
- Susanty, Bachmid, F, 2016, Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ektrak Tongkol Jgung (*Zea mays* L.) Konversi, Vol. 5 No. 2, h. 90.
- Oratmangun, S, A, Fatimawali, & Bodhi, W, 2014, 'Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.) terhadap *Artemia Salina* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)', Sebagai Studi Pendahuluan Potensi Antikanker 3(3).
- Purnomo, 2015, 'Praktik-praktik Konservasi Lingkungan Secara Tradisional di Jawa', Universitas Brawijaya Press, Malang, h. 68.

- Ramdhini, R.N. 2010. Uji Toksisitas Terhadap *Artemia Salina* Leach. Dan Toksisitas Akut Komponen Bioaktif *Pandanus conoideus* var. *conoideus* Lam. Sebagai Kandidat Antikanker. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta, h. 17.
- Ritna, A, Anam, S, & Khumaidi, A, 2016, 'Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Benalu Batu (*Begonia* sp.) asal Kabupaten Morowali Utara', Jurnal Farmasi Galenika, h. 88
- Ryanata, E, 2014, 'Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin dari Kulit Buah Pisang Masak (*Musa paradisiaca* L) secara Spektrofotometri dan Permanganometri', Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya, 4 (1), h. 4.
- Salim, E, Hasnirwan, Sartika, 2018, 'Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas, dan Kandungan Fenolik Total dari Daun Puring Merah (*Codiaeum variegatum* (L.) Rumph), Jurnal Kimia Unand Vol.7 Nomor 2.
- Santosa, D, Heresmita, PP, 2015, 'Penentuan Aktivitas Antioksidan *Garcinia Dulcis* (Roxb.) Kurz, *Blumea mollis* (D.Don) Merr., *Siegesbeckia Orientalis* L., Dan *Salvia Riparia* H.B.K Yang Dikoleksi Dari Taman Nasional Gunung Merapi Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1- Pikril-Hidrazil) Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya, Traditional Medicine Journal, hh. 29-30
- Syarif, RA, Muhajir, M, Ahmad, AR & Malik, A, 2015, 'Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan Dengan Menggunakan Metode Peredaman Radikal DPPH Ekstrak Etanol Daun *Cordia myxa* L.', Jurnal Fitofarmaka Indonesia, vol 2, no. 1, pp. 83-89.
- Sukarman, F 2013, 'Studi Komperasi Daya Ekstrak Etanolik Kasar dan Terpurifikasi daun srikaya (*Annona squamosa* L)', S.Farm Skripsi, Fakultas farmasi. Univeristas muslim Indonesia
- Supriyono, 2007, 'Pengujian *Lethal Dosis* (LD₅₀) Ekstrak Etanol Biji Buah Duku (*Lansium domesticum* Corr) pada Mencit (*Mus musculus*)', [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Wullur, AC, Schaduw, W, Wardhani ANK, 'Identifikasi Alkaloid Pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)', h. 55
- Yuda, PESK, Cahyaningsih, E, Winariyanthi, NLPY, 2017, 'Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta* L.)', Medicamento, Vol. 3 No. 2, h. 63
- Zuraida, 2018, 'Analisis Toksisitas Beberapa Tumbuhan Hutan Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)', Jurnal Penelitian Hasil Hutan, Vol. 36 No. 3, h. 241.