

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK KASAR, FRAKSI N-HEKSANA,
ETIL ASETAT, DAN METANOL-AIR DAUN KIRINYUH**
(Chromolaena odorata (L.) King & H.E Robins)

**PHYTOCHEMICAL AND TOXICITY TEST OF CRUDE EXTRACT, N-HEKSANE,
ETHYL ACETATE AND METHANOL-WATER FRACTION KIRINYUH LEAVES**
(Chromolaena odorata (L.) King & H.E Robins)

Tri Riski Amalia^{*}, Djihan Ryn Pratiwi dan Erwin

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman
Jalan barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda Indonesia 75123
Corresponding Author : riskiamalia14062000@gmail.com

Diterbitkan: 30 Oktober 2022

ABSTRACT

Kirinyuh leaves (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins) is one of the plants of the Asteraceae family that is commonly used by the community as a wound healing medicinal ingredient and has antioxidant and antibacterial activities. This research was conducted to determine the type of secondary metabolite compounds contained in the crude extract, n-Hexane, ethyl acetate and methanol-water fraction kirinyuh leaves (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins) and determine the level of toxicity against to *Artemia salina* L. using the BSLT method. Phytochemical test results of crude extract leaves kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins) contain alkaloids, flavonoids, steroids, and phenolics. The n-Hexane fraction contains steroids and quinones. The ethyl acetate fraction contains flavonoids and phenolics. The methanol-water fraction contains flavonoids, saponins and phenolics. Based on toxicity tests, crude extract, n-hexane, ethyl acetate fractions of kirinyuh leaves is highly toxic with successive LC₅₀ values of 2.88 ppm, 8.12 ppm and 6.86 ppm, then the methanol-water fraction is toxic with an LC₅₀ value of 186.76 ppm.

Keywords: Kirinyuh leaves, phytochemicals, toxicity

ABSTRAK

Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins) merupakan salah satu tanaman dari famili Asteraceae yang biasa digunakan oleh masyarakat sebagai bahan obat penyembuh luka dan memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins) dan menentukan tingkat toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan metode BSLT. Hasil uji fitokimia ekstrak kasar daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins) mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, dan fenolik. Fraksi n-Heksana mengandung steroid dan kuinon. Fraksi etil asetat mengandung flavonoid dan fenolik. Fraksi metanol-air mengandung flavonoid, saponin dan fenolik. Berdasarkan uji toksisitas, ekstrak kasar, fraksi n-heksana, etil asetat daun kirinyuh bersifat sangat toksik dengan nilai LC₅₀ berturut-turut 2,88 ppm, 8,12 ppm dan 6,86 ppm selanjutnya fraksi metanol-air bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ 186,76 ppm.

Kata kunci: Daun Kirinyuh, fitokimia, toksisitas

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara *megaldiversity* di mana terdapat berbagai jenis makhluk hidup baik berupa hewan, tumbuhan

ataupun mikroorganisme. Pemanfaatan tumbuhan baik dalam rangka memenuhi kebutuhan pangan, sandang maupun dalam rangka pengobatan tradisional sudah lama diketahui oleh masyarakat

Indonesia. Tidak sedikit masyarakat yang ada memilih penggunaan bahan obat tradisional yang menggunakan bahan alam [1]. Salah satu jenis tumbuhan dari famili *Asteraceae* yang biasa digunakan oleh masyarakat sebagai bahan obat adalah daun kirinyuh yang dapat digunakan sebagai obat penyembuh luka dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan [2]. Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) banyak dimanfaatkan sebagai obat pereda nyeri, obat batuk, diare, antimikroba, antispasmodik, diuretik, anti-hipertensi dan anti-inflamasi [3]. Daun kirinyuh memiliki kandungan senyawa flavonoid (terdiri dari auron, kalkon, flavon dan flavonol), alkaloid, tanin, saponin, fenolik, steroid dan triterpenoid [4,5,6]. Dalam makalah ini akan dilaporkan tentang uji skrining fitokimia dan uji toksitas pada ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain pipet mikro, pipet tetes, neraca analitik, spatula, tabung reaksi, rak tabung reaksi, plat mikro standar, batang pengaduk, *bulb*, botol reagen gelap, dan *rotary evaporator*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain sampel daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins), pelarut metanol, n-Heksana, etil asetat, aquades, larutan $H_2SO_{4(p)}$, larutan H_2SO_4 2N, larutan $HCl_{(p)}$, larutan HCl 2N, pereaksi Dragendorff, serbuk Mg, larutan asam asetat glasial, larutan $FeCl_3$ 1%, larutan NaOH 5%, air laut, larva udang *Artemia salina* L., larutan DMSO, kertas saring dan *aluminium foil*.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Sampel daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) didapat dari Kelurahan Lempake, Kecamatan Samarinda Utara, Kota Samarinda, Kalimantan Timur. Sampel kemudian dibersihkan dengan cara dicuci dibawah air mengalir, dipotong hingga berukuran kecil, dikeringkan pada suhu ruang kemudian dihaluskan. Simplisia kering yang diperoleh kemudian di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3x24 jam, lalu filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Difraksinasi ekstrak kasar

metanol dengan pelarut n-heksana (non-polar) dan etil asetat (semi polar) yang kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak dari masing-masing fraksi.

Uji Fitokimia

Flavonoid

Ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak masing-masing dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,3 gram serbuk Mg dan 3 tetes $HCl_{(p)}$. Positif flavonoid yaitu dengan terbentuknya warna kuning, jingga atau merah [7].

Alkaloid

Ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak masing-masing dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 3 tetes H_2SO_4 2N kemudian larutan dikocok, selanjutnya ditambahkan 5 tetes pereaksi Dragendorff. Positif alkaloid yaitu dengan terbentuknya endapan jingga hingga merah kecoklatan [7].

Steroid/Triterpenoid

Ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak masing-masing dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 tetes asam asetat glasial (CH_3COOH glasial) dan 2 tetes $H_2SO_{4(p)}$. Positif steroid yaitu dengan terbentuknya warna biru atau hijau sedangkan uji positif triterpenoid yaitu dengan terbentuknya warna merah atau ungu [7].

Fenolik

Ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak masing-masing dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Positif fenolik yaitu dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang pekat [7].

Saponin

Ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak

masing-masing dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL air panas lalu dikocok dengan kuat, jika terbentuk busa kemudian larutan ditambahkan 2 tetes HCl_(p). Positif saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil selama ±15 menit [7].

Kuinon

Ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) dilarutkan dengan pelarut yang sesuai. Larutan ekstrak masing-masing dimasukkan sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 tetes larutan NaOH 5% lalu diamati perubahan warnanya, kemudian ditambahkan 5 tetes larutan HCl 2N dan diamati. Positif kuinon ditandai dengan kembalinya warna larutan seperti semula [7].

Uji Toksisitas

Uji toksisitas ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) dilakukan dengan metode BS LT terhadap larva udang *Artemia salina* L. Telur udang disemai dalam wadah penetasan yang berisi air laut selama 1x24 jam. Larutan induk dibuat dengan menimbang masing-masing ekstrak lalu di larutkan dalam larutan DMSO dan aquades, kemudian larutan uji dibuat dalam beberapa variasi konsentrasi. Larva udang ditambahkan pada masing-masing konsentrasi larutan uji sebanyak 10 ekor dan didiamkan selama 1x24 jam, setelah itu dihitung jumlah larva yang mati untuk menentukan nilai LC₅₀

menggunakan analisis probit dengan regresi linear [8,9,10].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Sampel daun kirinyuh yang telah dipreparasi kemudian diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut metanol, di mana maserasi dilakukan selama 3x24 jam. Proses maserasi mengakibatkan terjadinya perbedaan tekanan di luar dan di dalam sel, sehingga dinding dan membran di dalam sel tumbuhan akan pecah dan senyawa metabolit sekunder yang berada di dalam sitoplasma akan tertarik keluar bersama pelarut yang digunakan (Yulianingtyas dan Kusmartono, 2016). Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar daun kirinyuh, selanjutnya ekstrak dilarutkan dengan pelarut metanol dan air dengan perbandingan 3:2 dalam 500 mL lalu difraksinasi dengan pelarut n-Heksana (non polar) dan etil asetat (semi polar) sehingga diperoleh filtrat dari masing-masing fraksi yang kemudian diuapkan kembali menggunakan *rotary evaporator* [11].

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins) dengan metode uji warna menggunakan reagen spesifik. Senyawa metabolit sekunder yang diuji antara lain alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, fenolik dan kuinon, adapun hasil uji nya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins)

	E.K.M D.Kirinyuh	F.N-H D.Kirinyuh	F.E.A D.Kirinyuh	F.M-A D.Kirinyuh
Alkaloid	+	-	-	-
Flavonoid	+	-	+	+
Steroid	+	+	-	-
Triterpenoid	-	-	-	-
Saponin	-	-	-	+
Fenolik	+	-	+	+
Kuinon	-	+	-	-

Keterangan:

(+) = positif senyawa metabolit sekunder

(-) = negatif senyawa metabolit sekunder

Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan metode BS LT bertujuan untuk menentukan tingkat toksik

suatu zat terhadap larva udang *Artemia salina* L. yang dinyatakan dalam nilai LC₅₀ (*Lethal concentration 50%*), di mana diketahui bahwa

senyawa kimia yang berpotensi sebagai bioaktif jika memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm dan jika nilai $LC_{50} > 1000$ ppm maka bersifat non toksik [10]. Larva *Artemia salina* L didiamkan selama 24 jam untuk mengetahui tingkat efektivitasnya berdasarkan penentuan nilai LC_{50} yang

menunjukkan kematian larva mencapai 50% [12]. Hasil uji toksisitas terhadap ekstrak kasar, fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol-air daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins)

Konsentrasi (ppm)	\log_{10} Konsentrasi	Total Larva			Rata-rata Total Larva	Jumlah Larva Mati			Rata-rata Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit	LC_{50} (ppm)
		1	2	3		1	2	3				
500	2.6989	10	10	10	10	10	10	10	10	100	8.09	
250	2.3979	10	10	10	10	10	10	8	9.3	93	6.48	
125	2.0969	10	10	10	10	9	9	9	9	90	6.28	
62.5	1.7959	10	10	10	10	6	10	10	8.6	86	6.08	2,88
31.25	1.4948	10	10	10	10	9	7	10	8.6	86	6.08	
15.625	1.1938	10	10	10	10	7	7	10	8	80	5.84	
7.8125	0.8928	10	10	10	10	8	7	8	7.6	76	5.71	

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas Fraksi n-Heksana Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins)

Konsentrasi (ppm)	\log_{10} Konsentrasi	Total Larva			Rata-rata Total Larva	Jumlah Larva Mati			Rata-rata Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit	LC_{50} (ppm)
		1	2	3		1	2	3				
1000	3	10	10	10	10	10	8	9	9	90	6.28	
500	2.6989	10	10	10	10	9	9	8	8.6	86	6.08	
250	2.3979	10	10	10	10	7	9	8	8	80	5.84	
125	2.0969	10	10	10	10	8	7	8	7.6	76	5.71	
62.5	1.7959	10	10	10	10	7	6	7	6.6	66	5.41	8,12
31.25	1.4948	10	10	10	10	7	6	6	6.3	63	5.33	
15.625	1.1938	10	10	10	10	6	7	5	6	60	5.25	
7.8125	0.8928	10	10	10	10	4	6	5	5	50	5.00	

Tabel 4. Hasil Uji Toksisitas Fraksi Etil Asetat Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins)

Konsentrasi (ppm)	\log_{10} Konsentrasi	Total Larva			Rata-rata Total Larva	Jumlah Larva Mati			Rata-rata Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit	LC_{50} (ppm)
		1	2	3		1	2	3				
1000	3	10	10	10	10	10	10	10	10	100	8.09	
500	2.6989	10	10	10	10	9	9	10	9.3	93	6.48	
250	2.3979	10	10	10	10	9	9	8	8.6	86	6.08	
125	2.0969	10	10	10	10	9	9	7	8.3	83	5.95	
62.5	1.7959	10	10	10	10	8	8	7	7.6	76	5.71	
31.25	1.4948	10	10	10	10	8	6	8	7.3	73	5.61	
15.625	1.1938	10	10	10	10	7	9	5	7	70	5.52	
7.8125	0.8928	10	10	10	10	7	6	7	6.6	66	5.41	

Tabel 5. Hasil Uji Toksisitas Fraksi Metanol-Air Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins)

Konsentrasi (ppm)	Log ₁₀ Konsentrasi	Total Larva			Rata-rata Total Larva	Jumlah Larva Mati			Rata-rata Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit	LC ₅₀ (ppm)
		1	2	3		1	2	3				
1000	3	10	10	10	10	8	5	5	6	60	5.25	
500	2.6989	10	10	10	10	6	6	6	6	60	5.25	
250	2.3979	10	10	10	10	4	7	5	5.3	53	5.08	
125	2.0969	10	10	10	10	3	4	5	4	40	4.75	
62.5	1.7959	10	10	10	10	5	5	4	4.6	46	4.90	186,76
31.25	1.4948	10	10	10	10	3	6	2	3.6	36	4.64	
15.625	1.1938	10	10	10	10	3	4	4	3.6	36	4.64	
7.8125	0.8928	10	10	10	10	2	4	4	3.3	33	4.56	

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa pada ekstrak kasar daun kirinyuh didapatkan persamaan regresi linear $y = 1.0227x + 4.5291$ yang diperoleh dari grafik yang menghubungkan x (Log₁₀ konsentrasi) dengan y (nilai probit) sehingga dapat dihitung nilai LC₅₀ ekstrak kasar daun kirinyuh sebesar 2,88 ppm dengan kategori sangat toksik. Pada fraksi n-Heksana daun kirinyuh didapatkan persamaan regresi linear $y = 0.5908x + 4.4625$ yang diperoleh dari grafik yang menghubungkan x (Log₁₀ konsentrasi) dengan y (nilai probit) sehingga dapat dihitung nilai LC₅₀ fraksi n-Heksana daun kirinyuh sebesar 8,12 ppm dengan kategori sangat toksik. Pada fraksi etil asetat daun kirinyuh didapatkan persamaan regresi linear $y = 0.997x + 4.1657$ yang diperoleh dari grafik yang menghubungkan x (Log₁₀ konsentrasi) dengan y (nilai probit) sehingga dapat dihitung nilai LC₅₀ fraksi etil asetat daun kirinyuh sebesar 6,86 ppm dengan kategori sangat toksik. Pada fraksi metanol-air daun kirinyuh didapatkan persamaan regresi linear $y = 0.3579x + 4.1871$ yang diperoleh dari grafik yang menghubungkan x (Log₁₀ konsentrasi) dengan y (nilai probit) sehingga dapat dihitung nilai LC₅₀ fraksi metanol-air daun kirinyuh sebesar 186,76 ppm dengan kategori toksik. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar dan fraksi-fraksi daun kirinyuh berpotensi sebagai bioaktif karena memiliki nilai LC₅₀<1000 ppm. Sifat toksitas yang diperoleh pada ekstrak kasar dan fraksi-fraksi daun kirinyuh berkaitan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun kirinyuh, karena senyawa tersebut mampu untuk menghambat makan dari larva *Artemia salina* L. dengan berperan sebagai racun perut, sehingga makanan tidak dapat di cerna dengan baik karena sistem pencernaan larva tersebut terganggu [13].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) King & H.E Robins) mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, dan fenolik. Fraksi n-Heksana mengandung steroid dan kuinon. Fraksi etil asetat mengandung flavonoid dan fenolik. Fraksi metanol-air mengandung flavonoid, saponin dan fenolik. Berdasarkan uji toksitas, ekstrak kasar, fraksi n-Heksana, etil asetat daun kirinyuh bersifat sangat toksik dengan nilai LC₅₀ berturut-turut 2,88 ppm, 8,12 ppm dan 6,86 ppm selanjutnya fraksi metanol-air bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ 186,76 ppm.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada kepala laboratorium anatomi dan sistematika tumbuhan jurusan biologi FMIPA UNMUL yang telah melakukan identifikasi tumbuhan, Kepala Laboratorium Organik dan Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian di lab tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Nugroho, A.W. (2017). Review: Konservasi Keanekaragaman Hayati Melalui Tanaman Obat Dalam Hutan Di Indonesia Dengan Teknologi Farmasi: Potensi Dan Tantangan. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 1(7), 377-383.
- [2] Fitrah, M. (2016). Identifikasi Ekstrak Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* Linn) terhadap Sel Antiproliferasi Tikus Leukemia L1210. *JF FIK UINAM*, 4(3), 99-105.

- [3] Suprineringrum, R., Nurhasnawati, H. dan Faisah, S. (2020). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Serunai (*Chromolaena odorata* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Al Urum Sains dan teknologi*, 5(2), 54-57.
- [4] Ngozi, I. M., Jude, I. C. dan Catherine, I. C. (2009). Chemical Profile of *Chromolaena odorata* L. (King and Robinson) Leaves. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(5), 521-524.
- [5] Fadia., Nurlailah., Herlina, T. E. dan Lutpiatina, L. (2020). Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) sebagai Antibakteri *Salmonella Typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(3), 158-168.
- [6] Frastika, D., Pitopang, R. dan Suwastika, I. N. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R. M. King Dan H. Rob) Sebagai Herbisida Alami Terhadap Perkecambahan Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* (L.) R.Wilczek) dan Biji Karuilei (*Mimosa Invisa* Mart. Ex Colla). *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 6(3), 225-238.
- [7] Harborne, J. B. (1996). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- [8] Erwin, E., Puspahmana, W.R., Sari, I.P., Hairani, R. and Usman, U. (2019). GC-MS profiling and DPPH radical scavenging activity of the bark of Tamboi (*Baccaurea macrocarpa*). *F1000Research*, 7(1997), 1-8.
- [9] Karolina, A., Pratiwi, D.R., and Erwin. (2018). Phytochemical and Toxicity Test of Merung Extracts (*Copyosapelta tomentosa* (Blume)). *Jurnal Atomik*, 3(2), 79-82.
- [10] Meyer, B. N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E. dan McLaughlin, J.L. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med*, 45(5), 31-34.
- [11] Marliana, E. dan Saleh, C. (2011). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenaria siceraria* (Morina) Standl). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2), 63-69.
- [12] Septiani, T. W. dan Erwin. (2013). Uji Toksisitas (brine shrimp lethality test) dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Alami dari Daun Terap (*Arthocarpusodoratissimus* B.) dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *Prosiding Seminar Nasional Kimia 2013*.
- [13] Cahyadi, R. (2009). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Universitas Dipenogoro.