

# SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK DIKLOROMETANA RIMPANG TEMU KUNCI (*Boesenbergia rotunda*)

## PHYTOCHEMICAL SCREENING AND TOXICITY ASSAY OF DICHLOROMETHANE EXTRACT OF FINGER ROOT (*Boesenbergia rotunda*) RHIZOME

Jonathan <sup>1</sup>, Rita Hairani <sup>1,2</sup>, Ritbey Ruga <sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman, Samarinda, 75123, Kalimantan Timur, Indonesia

<sup>2</sup> Pusat Unggulan Iptek Perguruan Tinggi Obat dan Kosmetik dari Hutan Tropikal Lembab dan Lingkungannya (PUI-OKTAL), Universitas Mulawarman, Samarinda, 75123, Kalimantan Timur, Indonesia

\* Corresponding Author : ritbey.r@fmipa.unmul.ac.id

### Article History

Submitted : 02 July 2024

Accepted: 23 August 2024

### ABSTRACT

The rhizome of *Boesenbergia rotunda* (temu kunci) is one of medicinal plants having potential for medicinal, supplementary food and drink due to its biological activities. The aims of this research are to identified the secondary metabolite compounds present in the dichlorometane extract of finger-root rhizomes through phytochemical screening using thin layer chromatography (TLC) method and to investigated its toxicity against *Artemia salina* L. shrimp larvae by using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The result of phytochemical analysis showed that the dichloromethane extract contains secondary metabolite compounds including flavonoids, phenolics and triterpenoids while the toxicity test of the extract showed its LC<sub>50</sub> value of 303.68 µg/mL. It was indicated that the extract could be classified as toxic.

**Keywords:** *Boesenbergia rotunda*, Phytochemical Screening, Thin Layer Chromatography, Toxicity Test

## 1. PENDAHULUAN

Temu kunci merupakan tanaman herbal yang telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit seperti reumatik, nyeri otot, demam, asam urat dan gangguan saluran pencernaan.<sup>1</sup> Di Indonesia, rimpang temu kunci digunakan sebagai salah satu bahan baku dalam pembuatan jamu yang merupakan minuman tradisional yang telah digunakan oleh masyarakat Indonesia secara turun temurun. Temu kunci mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri yang memiliki potensi sebagai bahan baku obat.<sup>1</sup> Temu kunci juga memiliki beragam aktivitas biologi seperti antioksidan, antimikroba, antivirus, antijamur, antiinflamasi, antikarsinogenik dan antimaag.<sup>2</sup>

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang disintesis melalui jalur metabolit sekunder yang tidak terlibat dalam pertumbuhan normal, perkembangan atau reproduksi tetapi memiliki peran dalam proses adaptasi dalam kondisi stress.<sup>3</sup> Metabolit sekunder dapat ditemukan dalam golongan tanaman yang memiliki sifat hidup organisme atau tanaman penghasil. Berdasarkan jalur biosintesis metabolit sekunder yang terbentuk, senyawa metabolit sekunder digolongkan dalam beberapa jenis yaitu alkaloid, triterpenoid, flavonoid, saponin, fenolik, kuinon, dan lain-lain.<sup>4</sup> Temu kunci diketahui mengandung jenis

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



senyawa metabolit sekunder yang cukup lengkap seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, terpenoid dan minyak atsiri.<sup>1</sup>

Ekstraksi adalah pemisahan zat

berdasarkan perbedaan kelarutan terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda. Metode ekstraksi yang umum dilakukan adalah metode maserasi, dimana maserasi dilakukan dengan memasukkan simplisia dan pelarut tertentu kedalam suatu wadah yang ditutup rapat dalam suhu kamar.<sup>5</sup> Maserasi adalah metode ekstraksi yang sederhana dan umum digunakan baik untuk skala kecil maupun industri. Proses ekstraksi dapat dihentikan saat konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi dalam sel tanaman setimbang.<sup>6</sup>

Uji fitokimia merupakan suatu uji yang mempelajari analisis kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu sampel tumbuhan atau hewan secara keseluruhan maupun bagian kecil sampel. Hasil akhir uji fitokimia diharapkan dapat menjadi petunjuk ditemukannya senyawa baru dengan efek farmakologis untuk memacu penemuan obat baru yang bersifat antibakteri, antivirus, dan lainnya.<sup>7</sup> Kandungan senyawa metabolit dapat diidentifikasi dari reaksi pewarnaan menggunakan reagen dengan menggunakan metode warna melalui uji KLT (kromatografi lapis tipis) Uji KLT merupakan analisis yang dilakukan untuk memastikan adanya kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam suatu sampel berupa nilai  $R_f$  (*retardation factor*) dan warna noda kromatogram dari proses elusi setelah disemprot dengan pereaksi kimia tertentu. Hasil ini dapat memberi informasi golongan senyawa yang terkandung dalam suatu sampel dan perbedaan sifat senyawa sehingga senyawa tersebut dapat diidentifikasi.<sup>8</sup> Pemisahan yang terjadi pada metode KLT terjadi karena adanya persaingan antara fase diam dan fase gerak untuk mengikat suatu komponen senyawa yang ada pada plat KLT.<sup>9</sup>

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu metode dalam menguji efek sitotoksik ekstrak tanaman terhadap larva *Artemia salina* L. Larva *A. salina* merupakan sejenis udang yang digunakan sebagai hewan coba untuk uji toksisitas bahan alam dengan BSLT.<sup>10</sup> Dalam pengujian ini digunakan hewan uji larva udang sebagai bioindikator, hal ini dikarenakan hewan uji ini memiliki tingkat respon perilaku dan fisiologi yang sama dengan manusia terhadap lingkungan sehingga kematian hewan uji akan menggambarkan dosis kematian jika diaplikasikan kepada manusia. Apabila nilai  $LC_{50}$  dengan BSLT pada ekstrak tanaman dikategorikan sebagai toksik, maka dapat dikembangkan sebagai obat.<sup>11</sup> Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak diklorometana rimpang temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) serta tingkat toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* L.

## 2. METODE

### 2.1 Alat dan Bahan

#### 2.1.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu *hot plate*, botol semprot, wadah uji, pipet mikro, tip, kompartemen, lampu pijar, spatula, batang pengaduk, corong kaca, pipet tetes, botol maserasi, gelas kimia, Erlenmeyer dan *rotary evaporator*.

#### 2.1.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu rimpang temu kunci (*Boesenbergia rotunda*), aseton, n-heksana, etil asetat, larutan vanillin asam sulfat, larutan  $FeCl_3$  1%, pereaksi Dragendorff, pereaksi Liebermann-Burchard, *aquadest*, larutan  $FeCl_3$  1%, larutan, air laut, larutan DMSO 1%, plat silika gel 60 F<sub>254</sub> dan kista *Artemia salina* L.

### 2.2 Prosedur Penelitian

#### 2.2.1. Preparasi Sampel

Sampel rimpang temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) dibersihkan dan dikeringanginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Sampel kering selanjutnya dihaluskan dan ditimbang berat keringnya.

#### 2.2.2. Ekstraksi Sampel

Sebanyak 5 kg sampel rimpang temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) kering dimaserasi menggunakan pelarut diklorometana selama 6x72 jam. Hasil maserasi selanjutnya

dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak diklorometana rimpang temu kunci.

### 2.2.3. Uji Fitokimia

Ekstrak diklorometana rimpang temu kunci dilarutkan dalam pelarut aseton, lalu dilakukan uji fitokimia untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, triterpenoid dan steroid, flavonoid dan fenolik yang terkandung dalam sampel. Ekstrak kasar diklorometan dengan metode KLT yang dimodifikasi menggunakan gradien pelarut n-heksana:etil asetat (4:1). Sampel dilarutkan dalam aseton kemudian di totol pada masing-masing plat silika gel 60 F<sub>254</sub> yang telah disiapkan untuk uji alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid dan fenolik. Selanjutnya dielusi dengan pelarut n-heksana:etil asetat dengan perbandingan 4:1. Setelah itu, masing-masing plat disemprot dengan pereaksi spesifik seperti alkaloid menggunakan pereaksi Dragendorff yang menunjukkan adanya bercak berwarna merah pereaksi Liebermann-Burchard untuk mengidentifikasinya adanya triterpenoid dan steroid, fenolik yang dapat diidentifikasi dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1% dengan terbentuknya bercak warna hitam serta flavonoid menunjukkan uji positif dengan vanillin sulfat.<sup>8,12,13</sup>

### 2.2.4. Uji Toksisitas

Uji toksisitas menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* terhadap larva udang *Artemia salina* L. yang dikemukakan oleh Meyer [10]. Sebanyak 10 mg kista *A. salina* dimasukkan ke dalam kompartemen yang telah berisi 500 mL air laut. Didiamkan selama 1-2 hari hingga kista menetas. Disiapkan laurtan uji dengan menimbang 2 mg ekstrak diklorometana rimpang temu kunci kemudian dilarutkan dengan 200 µL DMSO 1%. Lalu dilakukan pengenceran bertingkat dengan variasi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,6 dan 7,8 µg/mL. Larutan kontrol dibuat dengan perlakuan yang sama tanpa penambahan sampel ekstrak diklorometana temu kunci. Selanjutnya uji toksisitas dilakukan dengan menambahkan 100 µL air laut yang berisi 10 ekor larva udang *A. salina* ke dalam sumuran yang telah diisi sebelumnya dengan 100 µL larutan uji dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, jumlah larva udang yang mati dihitung untuk menentukan nilai *Lethal Concentration 50%* (LC<sub>50</sub>).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN













Preparasi sampel diawali dengan membersihkan rimpang temu kunci dari zat pengotor kemudian dikeringanginkan tanpa terkena sinar matahari langsung untuk menurunkan kadar air pada sampel dan menjaga kelembapan sampel. Kemudian sampel kering dihaluskan hingga menjadi serbuk untuk memperluas permukaan sehingga memudahkan pelarut berinteraksi dengan sampel untuk menarik senyawa metabolit sekunder dengan optimal. Setelah itu dilakukan penimbangan terhadap serbuk rimpang temu kunci dan diperoleh berat sebesar 5 kg.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut diklorometana. Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin, metode ini dapat mencegah kerusakan senyawa yang terkandung dalam sampel. Penggunaan diklorometana sebagai pelarut dikarenakan pelarut diklorometana merupakan pelarut aprotik yang dapat menarik senyawa polar maupun non polar.

Proses maserasi akan mengakibatkan pecahnya dinding sel tanaman karena adanya tekanan di luar dan di dalam sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada dalam sampel akan larut dalam pelarut diklorometana. Hasil maserasi disaring dan filtratnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Proses ini merupakan pemisahan berdasarkan perbedaan titik didih yang mana pelarut akan menguap pada titik didih yang lebih rendah dari pelarut yang digunakan karena adanya pengaruh tekanan yang diperkecil. Ekstrak kasar rimpang temu kunci yang berwarna coklat diperoleh sebesar 653 g dengan persen rendemen yaitu 13,06% yang selanjutnya diidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekundernya melalui uji fitokimia.

Uji fitokimia merupakan salah satu metode skrining untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu tanaman. Dalam penelitian ini, dilakukan uji fitokimia terhadap senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, fenolik dan flavonoid menggunakan metode KLT dengan fase gerak n-heksana:etil asetat (4:1). Adapun kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak diklorometana rimpang temu kunci disajikan pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Diklorometana Rimpang Temu Kunci Dengan Metode KLT

Jenis Identifikasi	Harga Rf	Warna Noda pada Kromatogram		
		UV 254 nm	UV 366 nm	+ Perekasi
Fenolik	0,75 0,67 0,58 0,36	 -	 Biru fluoresens	 (+) FeCl <sub>3</sub> 1% (Hitam)
Flavonoid	0,75 0,67 0,58 0,36	 Abu-abu	 Biru fluoresens	 (+) Vanilin-sulfat (Merah)
Triterpenoid /Steroid	0,69 0,55	 -	 -	 (+) Liebermann Burchard (Jingga)
Alkaloid	-	 -	 -	 (-) Dragendorff

Keterangan:

(+) = Terdapat senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada **Tabel 1**, ekstrak diklorometana rimpang temu kunci tidak mengandung alkaloid setelah penyemrotan dengan pereaksi Dragendorff. Pada uji

triterpenoid dan steroid, digunakan pereaksi Liebermann-Burchard dimana diperoleh hasil positif dengan spot berwarna jingga pada plat yang menunjukkan adanya senyawa triterpenoid pada sampel. Hal ini dikarenakan senyawa triterpenoid membentuk warna oleh  $H_2SO_4(p)$  dalam pelarut asam asetat glasial sehingga menghasilkan warna merah-ungu [14]. Pada uji fenolik, digunakan pereaksi  $FeCl_3$  1% dengan terbentuknya warna hitam. Perubahan warna ini terjadi karena terbentuknya senyawa kompleks [15]. Penambahan pereaksi vanillin-sulfat pada larutan uji membentuk adanya spot spot berwarna merah yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam sampel. Hal ini dikarenakan gugus aldehid pada senyawa aprotik akan bereaksi dengan ikatan rangkap pada aprotik pada flavonoid sehingga membentuk sistem konjugasi dan menghasilkan warna merah.

*Brine shrimp lethality test* (BSLT) adalah suatu uji untuk mengetahui bioaktivitas suatu ekstrak berdasarkan sifat toksik suatu sampel dengan organisme sederhana seperti *Artemia salina* L. [16]. Prinsip metode ini didasarkan pada tingkat mortalitas larva udang *A. salina* terhadap ekstrak uji [17]. Pada uji ini digunakan pelarut DMSO (dimetil sulfoksida) dengan konsentrasi 1%. DMSO merupakan pelarut aprotik sehingga mampu melarutkan senyawa polar maupun non polar, DMSO dengan konsentrasi  $\leq 1,25$  % bersifat tidak toksik sehingga dapat menjamin hasil uji disebabkan karena metabolit sekunder yang ada dalam ekstrak kasar bukan disebabkan oleh pelarut [18]. Pada uji toksisitas ekstrak diklorometana rimpang temu kunci, digunakan beberapa variasi konsentrasi yang bertujuan untuk mengetahui besarnya nilai  $LC_{50}$  yang menyatakan kematian 50% populasi hewan uji. Hasil uji BSL ekstrak diklorometana rimpang temu kunci disajikan dalam **Tabel 2**.

**Tabel 1.** Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Diklorometana Rimpang Temu Kunci

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Persen Mortalitas (%)		Rerata Persen Mortalitas (%)	Nilai $IC_{50} \pm SE$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	Keterangan
	simplo	duplo			
1000	100	100	100	303,68 $\pm$ 0,05	Toksik
500	60	60	60		
250	30	30	30		
125	20	20	20		
62,5	0	0	0		
31,25	0	0	0		
15,6	0	0	0		
7,8	0	0	0		

Pengujian dilakukan dengan 2x pengulangan (*duplo*)

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis menggunakan *software IBM SPSS Statistics*. Berdasarkan hasil uji BSL, didapatkan nilai  $LC_{50}$  ekstrak diklorometana rimpang temu kunci sebesar 303,68  $\mu\text{g/mL}$  dengan standar *error* 0,05 dan dikategorikan toksik. Adapun tingkat toksisitas suatu ekstrak menurut Meyer dengan nilai  $LC_{50} \leq 30$   $\mu\text{g/mL}$  dikategorikan sangat toksik, 30 – 1000  $\mu\text{g/mL}$  dikategorikan toksik dan  $\geq 1000$   $\mu\text{g/mL}$  dikategorikan tidak toksik.<sup>10</sup>

Mekanisme kematian larva *A. salina* berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid dan flavonoid menghambat daya makan larva. Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai racun perut. Oleh karena itu, apabila senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva, sistem pencernaan dari larva akan terganggu. Senyawa dapat menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan

stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya dan akibatnya larva tersebut akan mengalami kematian karena tidak ada asupan nutrisi.<sup>19</sup>

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak diklorometana rimpang temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) mengandung senyawa triterpenoid, fenolik dan flavonoid; ekstrak diklorometana rimpang temu kunci (*Boesenbergia rotunda*) berpotensi memiliki bioaktivitas karena bersifat toksik terhadap *Artemia salina* L., dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 303,68 ± 0,05 µg/mL.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Eng-Chong, T.; Yean-Kee, L.; Chin-Fei, C.; Choon-Han, H.; Sher-Ming, W.; Li-Ping, C. T.; & Yusof, R. *Boesenbergia Rotunda: From Ethnomedicine to Drug Discovery. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, **2012**, 473637.
2. Mukti, L. S.; & Andriani, R. Pharmacological Activities of *Boesenbergia rotunda*. *Jurnal Info kesehatan* **2021**, 11(1), 371-378.
3. Subhashini, P.; Dilipan, E.; Thangaradjou, T.; & Papenbrock, J. Bioactive Natural Products from *Marine Angiosperms: Abundance and Functions. Natural Products and Bioprospecting* **2013**, 3, 129-136.
4. Raharjo, T. J. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Belajar; **2013**.
5. Badaring, D. R.; Sari, S. P. M.; Nurhabiba, S.; Wulan, W.; & Lembang, S. A. R. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle Marmelos* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences* **2020**, 6(1), 16-26.
6. Tetti, M. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* **2014**, 7(2), 361-367.
7. Saragih, D. E.; & Arsita, E. V. Kandungan Fitokimia *Zanthoxylum acanthopodium* dan Potensinya sebagai Tanaman Obat di Wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara. In *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* **2019**, 5(1), 71-76.
8. Widyaningsih, W.; Pramono, S.; Widyarini, S.; & Sugiyanto, S. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol *Ulva lactuca* L. dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi* **2016**, 13(2), 199-211.
9. Dyera F. A. Phytochemical Screenings and Thin Layer Chromatography Analysis of Ethanol Extract Jeruju Leaf (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari* **2020**, 11(2), 113-124.
10. Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. E.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; & McLaughlin, J. L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay For Active Plant Constituents. *Planta Medica* **1982**, 45(1), 31-34.
11. Anisa, N. N.; Kartika, G. S.; Majid, V. A. A.; Azizah, W.; Arni, A.; & Erika, F. Penentuan LC50 Fraksi Metanol dan n-Heksana Daun Paku Sisik Naga (*D. pilloselloides*) di Kawasan Universitas Mulawarman dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Sains dan Kesehatan* **2022**, 4(6), 569-576.
12. Harborne, A. J. *Phytochemical Methods a Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer Science & Business Media; **1998**.
13. Fajriaty, I.; Hariyanto, I. H.; Saputra, I. R.; & Silitonga, M. Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*). *Jurnal Pendidikan Informatika Dan Sains* **2012**, 6(2), 243-256.

14. Aini, H. N.; Chairul Saleh.; & Erwin. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia* **2015**, 13(1), 35-40.
15. Prayoga, D. G. E.; Nocianitri, K. A.; & Puspawati, N. N. Identifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan* **2019**, 8(2), 111-121.
16. Nuralifah, N.; Parawansah, P.; & Nur, H. Uji toksisitas akut ekstrak air dan ekstrak etanol daun kacapiring (*Gardenia jasminoides* Ellis) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education* **2021**, 1(2), 98-106.
17. Fadli, F.; Suhaimi, S.; & Idris, M. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam [*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.] Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian* **2019**, 4(1), 35-42.
18. Geethaa, S.; Thavamany, P. J.; Chiew, S. P.; & Thong, O. M. Interference from Ordinarily Used Solvents in The Outcomes of *Artemia salina* Lethality Test. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research* **2013**, 4(4), 179-182.
19. Vitalia, N.; Najib, A.; & Ahmad, A. R. Uji toksisitas ekstrak daun pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* **2016**, 3(1), 124-129.