

UJI FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK KASAR DAUN, BATANG DAN KULIT BATANG TANAMAN AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.)

PHOTOCHEMICAL TESTING AND TOXICITY TESTING OF LEAVES, STEM AND BARK EXTRACTS OF AFRIKA (*Vernonia amygdalina* Del.)

Indah Ashari Rahmadani*, Erwin dan Djihan Ryn Pratiwi

Program Studi S1 Kimia FMIPA Universitas Mulawarman

Jl. Barong Tongkok No 4 Kampus Gn. Kelua, Samarinda, Indonesia

*Corresponding Author : indahashariii88@gmail.com

ABSTRACT

Vernonia amygdalina Del. are one of the medical plants that are widely used by community. The purpose of this research is to determine the secondary metabolites contained in leaves, stem and bark extracts of *Vernonia amygdalina* Del., and determine the level of toxicity (determine the LC₅₀ value of the three extracts) using the BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method. The results obtained are secondary metabolites contained in afrika leaves extract is flavonoids, triterpenoids and steroids, in afrika stem extract is alkaloids, flavonoids and steroids, and secondary metabolites containes in afrika bark extract is alkaloids, flavonoid, phenolic, triterpenoids and steroids. The LC₅₀ value of leaves, stem and bark extract of afrika plants are 399,853 ppm; 118,2497 ppm and 80,8165 ppm. These three types of extracts are toxic (LC₅₀ < 1000 ppm).

Keywords: Afrika plants, photochemical, toxicity

ABSTRAK

Tanaman afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) merupakan salah satu tanaman obat yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) serta menentukan tingkat toksisitas (menentukan nilai LC₅₀ dari ketiga ekstrak kasar tersebut) menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil yang diperoleh dari penelitian ini yaitu metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kasar daun afrika yaitu flavonoid, triterpenoid dan steroid, pada ekstrak kasar batang tanaman afrika yaitu alkaloid, flavonoid dan steroid serta pada ekstrak kasar kulit batang tanaman afrika yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid dan steroid. Nilai LC₅₀ ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika sebesar 399,85 ppm; 118,25 ppm dan 80,82 ppm, secara berturut-turut. Ketiga jenis ekstrak ini bersifat toksik (LC₅₀ < 1000 ppm).

Kata kunci: Tanaman afrika, fitokimia, toksisitas.

PENDAHULUAN

Tumbuhan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai kebutuhan, seperti bahan makanan dan sebagai obat-obatan. Salah satu tanaman obat yang merupakan famili dari Asteraceae yaitu Tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). Tanaman ini banyak ditemukan di Kalimantan Timur. Tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) termasuk ke dalam genus *Vernonia* yang banyak tumbuh di sekitar Afrika bagian barat, salah satunya di Nigeria [1].

Salah satu bagian tanaman afrika yaitu daun banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat kolesterol [2], mengatur gula darah [3], mempercepat penyembuhan luka [4] obat antimalaria dan antikanker [5]. Tanaman afrika diketahui memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *S. Aureus* dan *E. Coli* dengan konsentrasi 100 µg/mL [6]. Selain itu, penelitian sebelumnya menunjukkan adanya sifat antidiabetik pada tanaman afrika [7] dan memiliki aktivitas antioksidan [8].

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk menentukan senyawa metabolit

sekunder yang terdapat dalam ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) serta menentukan tingkat toksitas dari ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan metode BS LT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

METODE

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Beaker glass*, serangkaian alat destilasi, corong kaca, spatula, tabung reaksi, batang pengaduk, *rotary evaporator*, pipet tetes, *hot plate*, pipet mikro, neraca analitik, seperangkat alat pengembangbiakan larva udang, pipet volume, gelas ukur, plat mikro, botol vial dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah pelarut metanol, kertas saring, larutan H_2SO_4 2N, pereaksi Dragendorff, serbuk Mg, larutan HCl pekat, kloroform, larutan asam asetat glasial, larutan $FeCl_3$ 1%, aquades, larutan DMSO 1%, bibit larva udang *Artemia salina*.

Persiapan Sampel

Daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang telah disiapkan, dicuci bersih lalu dikering anginkan pada suhu ruang tanpa terkena sinar matahari. Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan.

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 200 g ampel daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yang telah dihaluskan kemudian diekstraksi dengan metode maserasi dengan cara merendam sampel yang telah dihaluskan dengan menggunakan pelarut metanol selama 3×24 jam. Kemudian filtrat dipisahkan dari residu dengan cara penyaringan menggunakan corong kaca dan kertas saring. Setelah itu, filtrat dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.).

Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan pelarut

methanol, masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan beberapa tetes H_2SO_4 2N dan pereaksi Dragendorff, kemudian dikocok dan didiamkan. Uji positif ditandai dengan terbentuknya endapan jingga hingga coklat [9].

Uji Flavonoid

Ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan pelarut metanol. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat, kemudian dihomogenkan dan didiamkan. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga [9].

Uji Fenolik

Ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan pelarut metanol. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan 3 tetes larutan $FeCl_3$ 1% lalu dikocok dan diamati. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam [9].

Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan pelarut metanol. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan 1 mL kloroform dan 1 mL asam asetat glacial, kemudian ditambahkan H_2SO_4 pekat secara perlahan-lahan. Adanya cincin merah atau ungu yang terbentuk menandakan positif triterpenoid dan adanya cincin biru atau hijau menandakan positif steroid [9].

Uji Kuion

Ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan pelarut metanol. Kemudian masing-masing tabung reaksi dikocok lalu ditambahkan 1 tetes NaOH. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah [9].

Uji Saponin

Ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina*

Del.) masing-masing dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dilarutkan dengan pelarut metanol. Kemudian masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan aquades panas dan dikocok kuat. Jika timbul busa, kemudian ditambahkan 1 tetes HCl pekat. Uji positif ditandai dengan terbentuknya busa stabil [10].

Uji Toksisitas

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Persiapan larva udang dilakukan dengan cara menyemaikan 10 mg telur udang ke dalam 500 mL air laut di wadah seperangkat alat pengembangbiakan larva udang selama 24-48 jam dengan diberikan cahaya yang berasal dari bohlam lampu pijar. Selanjutnya, larva udang siap digunakan.

Pertama-tama dibuat larutan sampel ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) 1000 ppm dengan cara menimbang 1 mg ekstrak kasar kemudian dilarutkan dengan DMSO sebanyak 100 μ L. Kemudian diencerkan dengan aquades sebanyak 150 μ L sehingga didapatkan volume total 250 μ L. Kemudian diambil 200 μ L volume total dan diencerkan dengan 600 μ L aquades sehingga volume total menjadi 800 μ L dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan kontrol dibuat dengan prosedur yang sama tetapi tidak menggunakan sampel.

Pada pengujian toksisitas dengan metode Meyer, pertama-tama disiapkan dua plat mikro standar yang masing-masing untuk plat uji dan plat kontrol. Kemudian dimasukkan 100 μ L larutan sampel yang telah dibuat sebelumnya ke dalam baris ke 1 dan ke 2 masing-masing tiga kolom plat uji. Hal yang sama dilakukan pada larutan kontrol ke dalam plat kontrol. Kemudian larutan baris ke-2 diencerkan dengan 100 μ L aquades dan diaduk. Kemudian larutan pada baris ke-2 yang telah diencerkan dipipet dan dimasukkan ke baris 3. Kemudian baris ke-3 diencerkan kembali dengan 100 μ L aquades dan diaduk. Hal tersebut dilakukan hingga baris terakhir plat sehingga didapatkan konsentrasi plat dimulai dari baris ke-1 yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, 31,25 ppm, 15,6 ppm dan 7,8 ppm.. Kemudian 100 μ L air laut yang berisi 8-12 larva udang dimasukkan ke dalam masing-masing baris plat uji dan plat kontrol. Kemudian plat didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, dapat dihitung jumlah rata-rata larva udang yang hidup dan mati pada setiap baris yang ada di dalam plat uji dan plat kontrol

dimana nilai LC₅₀ dihitung menggunakan analisis probit.

Teknik Analisis Data

Teknik analisis data uji toksisitas dapat dilihat berdasarkan efektivitas ekstrak daun, batang dan kulit batang tanaman Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap larva udang, hal tersebut dapat dinyatakan dengan nilai LC₅₀ yang dapat dihitung dengan rumus [11]:

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva mati}}{\text{jumlah larva total awal}} \times 100\%$$

Setelah didapatkan nilai % Mortalitas, kemudian dicari nilai probitnya melalui tabel. Dibuat grafik antara nilai probit dan log 10 konsentrasi sampel yang digunakan. Nilai LC₅₀ merupakan nilai x dari persamaan regresi linier yang didapat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi

Sampel daun, batang dan kulit batang tanaman afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) diambil secara manual dengan cara memetik daun dan mengambil batang tanaman afrika dari pohnnya yang berada di Wahau, Kutai Timur. Daun dan batang tanaman afrika yang telah diperoleh kemudian dibersihkan untuk menghilangkan pengotornya. Kemudian batang dan kulit batang tanaman afrika dipisahkan dan dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Proses pengeringan dilakukan di dalam ruangan dan terhindar dari sinar matahari untuk menghindari rusaknya metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel. Proses pengeringan dilakukan untuk mengurangi kadar air yang terkandung di dalam sampel sehingga sampel tidak mudah rusak dan dapat bertahan lebih lama. Sampel daun, batang dan kulit batang tanaman afrika yang telah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk yang bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga interaksi antara pelarut dan sampel lebih maksimal.

Ekstraksi Sampel

Hasil ekstraksi sampel daun, batang dan kulit batang tanaman afrika dengan metode maserasi diperoleh filtrat yang kemudian filtrat tersebut dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika yang pekat dan kental. Massa ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang yang diperoleh berturut-

turut yaitu 5,33 g; 8,30 g dan 7,43 g. Persen rendemen ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang yang diperoleh yaitu 2,66%; 4,15% dan 3,70%.

Ekstraksi dengan cara maserasi merupakan salah satu teknik ekstraksi secara dingin yang umum digunakan karena tidak menyebabkan terjadinya kerusakan terhadap kandungan zat aktif yang ada di dalam sampel [12]. Penyaringan dilakukan untuk memisahkan filtrat dari ampasnya. Filtrat tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C sehingga diperoleh ekstrak kasar yang pekat berwarna coklat tua.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika (*Vernonia amygdalina* Del.)

Metabolit Sekunder	Ekstrak Kasar		
	Daun	Batang	Kulit Batang
Alkaloid	-	+	+
Flavonoid	+	+	+
Fenolik	-	-	+
Triterpenoid	+	-	+
Steroid	+	+	+
Kuinon	-	-	-
Saponin	-	-	-

Keterangan :

(+) = Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia pada tabel 4.2 pada ekstrak kasar daun afrika mengandung metabolit sekunder flavonoid, triterpeneoid dan steroid. Kemudian pada ekstrak kasar batang tanaman afrika mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid dan steroid serta pada ekstrak kasar kulit batang tanaman afrika mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid dan steroid.

Uji Toksisitas

Pada uji toksisitas ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) dilakukan dengan uji mortalitas menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* L. yang kemudian dianalisis menggunakan program analisis probit (*Probability Unit*) SAS

Uji Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika dilakukan secara kualitatif. Berdasarkan uji warna menggunakan pereaksi/pelarut spesifik yang dapat memberikan informasi mengenai kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel. Adapun jenis metabolit sekunder yang diuji yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid, steroid, kuinon dan saponin. Berikut merupakan hasil skrining fitokimia daun, batang dan kulit batang tanaman afrika (*Vernonia amygdalina* Del.):

(*Statistical Analysis System*) untuk menentukan nilai LC₅₀. Hewan uji larva udang *Artemia salina* L. yang digunakan berumur 48 jam, di mana kondisi larva tersebut merupakan kondisi yang tepat untuk uji hayati dan anggota tubuh larva telah lengkap [13]. Pada penelitian ini konsentrasi ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika yang digunakan yaitu 1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,2 ppm dan 15,6 ppm. Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pada masing-masing konsentrasi sampel agar hasil yang diperoleh lebih akurat. Pada setiap kolom uji digunakan masing-masing 10 ekor larva udang. Berdasarkan penelitian diperoleh hubungan antara konsentrasi dan nilai probit dari ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) yaitu:

Tabel 2. Hubungan Konsentrasi dan Nilai Probit dari Ekstrak Kasar Daun Tanaman Afrika

Konsentrasi (ppm)	Log ₁₀ Konsentrasi	Total Larva	Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit
1000	3	10	5,7	57%	5,18
500	2,6989	10	5,3	53%	5,08
250	2,3979	10	4,3	43%	4,82
125	2,0969	10	4	40%	4,75
62,5	1,7959	10	4	40%	4,75
31,25	1,4948	10	3,3	33%	4,56
15,625	1,1938	10	3	30%	4,48
7,8125	0,8928	10	2,3	23%	4,26

Tabel 3. Hubungan Konsentrasi dan Nilai Probit dari Ekstrak Kasar Batang Tanaman Afrika

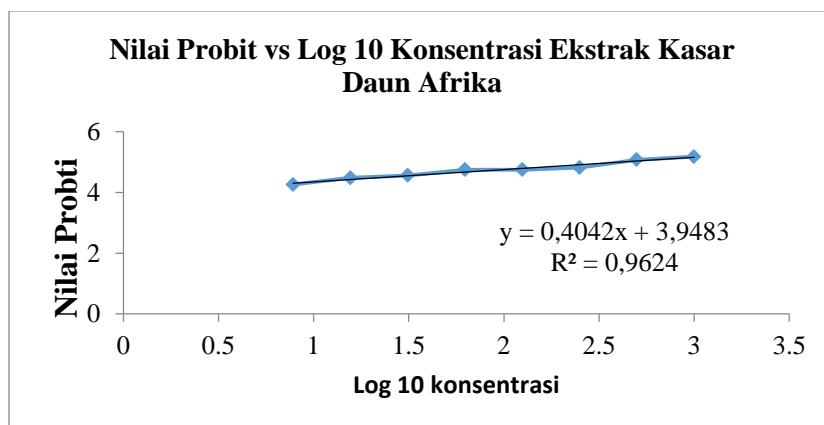
Konsentrasi (ppm)	Log ₁₀ Konsentrasi	Total Larva	Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit
1000	3	10	8,7	87%	6,13
500	2,6989	10	7	70%	5,52
250	2,3979	10	5,3	53%	5,08
125	2,0969	10	4	40%	4,75
62,5	1,7959	10	3,7	37%	4,67
31,25	1,4948	10	3,3	33%	4,56
15,625	1,1938	10	2,3	23%	4,26
7,8125	0,8928	10	2	20%	4,16

Tabel 4. Hubungan Konsentrasi dan Nilai Probit dari Ekstrak Kasar Kulit Batang Tanaman Afrika

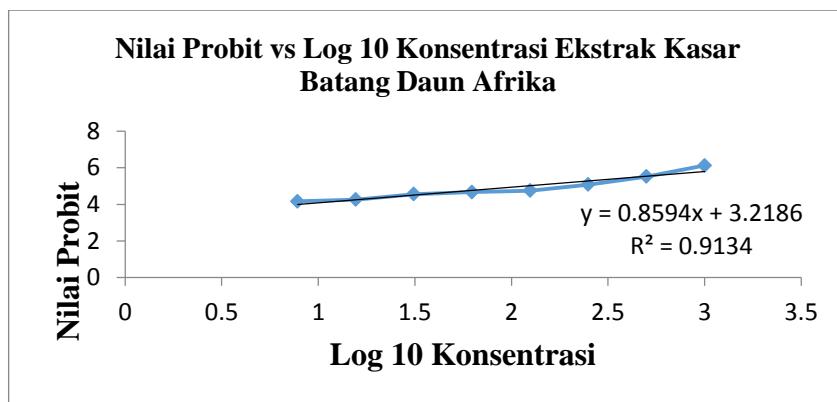
Konsentrasi (ppm)	Log ₁₀ Konsentrasi	Total Larva	Jumlah Larva Mati	% Mortalitas	Nilai Probit
1000	3	10	9	90%	6,28
500	2,6989	10	7,3	73%	5,61
250	2,3979	10	6	60%	5,25
125	2,0969	10	5,7	57%	5,18
62,5	1,7959	10	4	40%	4,75
31,25	1,4948	10	3,3	33%	4,56
15,625	1,1938	10	2,7	27%	4,39
7,8125	0,8928	10	2,3	23%	4,26

Berdasarkan data di atas kemudian dibuat grafik regresi linear yang menyatakan hubungan antara nilai probit dan konsentrasi ekstrak. Grafik

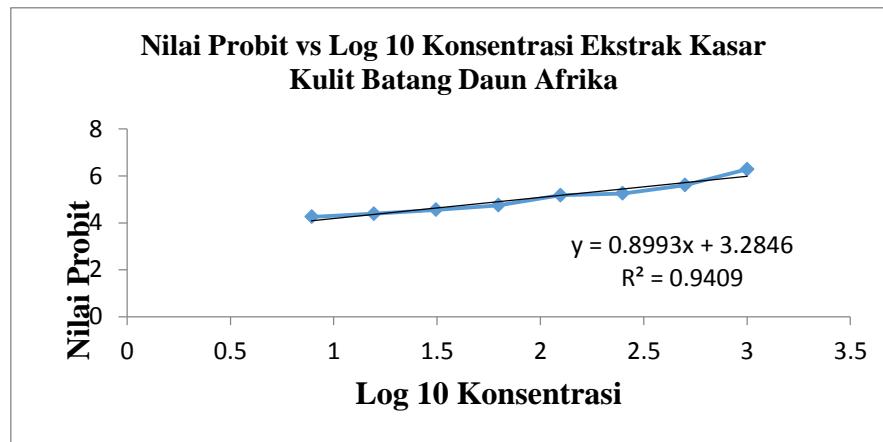
hubungan antara konsentrasi dan nilai probit ditampilkan pada gambar berikut:



Gambar 1. Grafik Regresi Linear antara log konsentrasi dan nilai probit ekstrak kasar daun tanaman afrika



Gambar 2. Grafik Regresi Linear antara log konsentrasi dan nilai probit ekstrak kasar batang tanaman afrika



Gambar 3. Grafik Regresi Linear antara log konsentrasi dan nilai probit ekstrak kasar kulit batang tanaman afrika

Pada ekstrak kasar daun tanaman afrika diperoleh persamaan regresi $y = 0,4042x + 3,9483$, pada ekstrak kasar batang tanaman afrika diperoleh persamaan regresi linear $y = 0,8594x + 3,2186$ dan pada ekstrak kasar kulit batang tanaman afrika diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,8993x + 3,2846$ sehingga dapat dihitung nilai x , di mana nilai x menyatakan nilai LC_{50} . Adapun dari hasil perhitungan diperoleh nilai LC_{50} dari ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika berturut-turut yaitu sebesar 399,853 ppm; 118,2497 ppm dan 80,8165 ppm

Kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika dapat mempengaruhi sifat toksik suatu zat. Beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sampel daun, batang dan kulit batang tanaman afrika seperti alkaloid, flavonoid, steroid dan fenolik diketahui memiliki sifat toksik [14]. Kematian larva udang Artemia salina L. berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid dan flavonoid yang bekerja dengan menghambat daya makan larva artemia (*antifeedant*). Senyawa toksik

tersebut akan menghambat reseptor perasa pada mulut hewan uji sehingga tidak mampu mengenali makanan. Hal tersebut dapat mengganggu aktivitas pencernaan hewan uji sehingga membuat larva udang tersebut mati [15].

Hasil analisis menunjukkan bahwa secara berturut-turut ekstrak kasar yang paling toksik berdasarkan nilai LC_{50} yaitu ekstrak kasar kulit batang tanaman afrika dengan nilai 80,82 ppm, ekstrak kasar batang tanaman afrika sebesar 118,25 ppm dan ekstrak daun tanaman afrika sebesar 399,85 ppm. Ketiga ekstrak tersebut dapat dikategorikan bersifat toksik dan berpotensi sebagai senyawa antikanker.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak kasar daun afrika yaitu flavonoid, triterpenoid dan steroid. Pada ekstrak kasar batang tanaman afrika yaitu alkaloid, flavonoid dan steroid serta pada ekstrak kasar kulit batang tanaman afrika yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, triterpenoid dan steroid. Nilai

LC₅₀ ekstrak kasar daun, batang dan kulit batang tanaman afrika berturut-turut yaitu sebesar 399,85 ppm; 118,25 ppm dan 80,817 ppm yang dapat dikategorikan bersifat toksik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada kepala Laboratorium Anatomi dan Sistematika Hewan yang telah membantu penulis dalam mengidentifikasi tanaman afrika.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ibrahim, G., Abdurahman, E.M., dan Katayal, U.A. (2004). *Pharmacognostic Studies on The Leaves of Vernonia amygdalina Del (Asteraceae)*. Nig. J. Nat. Orid. And Med. 08(1): 8-10.
- [2] Ardiani, R. (2017). Efek Antikolesterol Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del.*) pada Tikus. *Jurnal Penelitian Pendidikan MIPA*, 2(1): 116-121.
- [3] Kharimah, N. Z., L, Yani., S, Livia. (2016). Identifikasi senyawa flavonoid pada ekstrak dan fraksi daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del.*) In Prosiding Farmasi, ISSN: 2460-6472-6472. 2(2).
- [4] Ruslim, A. K., S. Anitasari., E. M. Oli'i dan S. Yani. (2017). Effect of African Leaves Extract (*Vernonia amygdalina Del.*) on Wound Healing Velocity After Tooth Extraction in Rattus. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(8): 408-414.
- [5] Febrianti, T., W. C Prabowo dan R. Laode. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del.*). *Proceeding Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*.
- [6] Pratiwi, R. D. dan Gunawan, E. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Delile*) Asal Papua Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(2): 148-157.
- [7] Ong, K. W., Hsu, A., Lixia, S., Huang, D., Tan, B. K. H. (2011). Polyphenols-rich *Vernonia amygdalina* Shows Antidiabetic Effects in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 133: 598-607.
- [8] Sukmawati., H. Hadi., Aminah. (2017). Potensi Senyawa Flavonoid Daun Afrika (*Vernonia amygdalina Del.*) Asal Ternate sebagai Antioksidan. *Jurnal Ilmiah As-Syifa*, 9(2): 195-200.
- [9] Harbone, J.B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: ITB.
- [10] Noer, S. dan Pratiwi, R.S. (2016). Uji Kualitatif Fitokimia Daun Ruta *Angustifolia*. *Faktor Exacta* 9(3): 200-206.
- [11] 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: 31 – 34.
- [12] Erwin., N. Dedi dan Usman. (2020). Skrining fitokimia dan bioaktivitas tumbuhan bakau api-api putih (*Avicennia alba* Blume). *J Sains Kes.* 2(4): 311-315.
- [13] Muaja, A.D. (2013). Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak daun sayogik (*Saurauia bracteosa* DC.) dengan metode soxhletasi. *FMIPA UNSTRAT*. 2(2): 115-118.
- [14] Pasilala, F. B., Daniel, dan Saleh, Chairul. (2016). *Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Aktivitas Antioksidan dari Daun Sintrong (Crassocephalum Crepidioides) Dengan Metode 2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazil (Dpph)*.
- [15] Rita, W.S., I.W. Suarta., & A. Sabikin. (2008). Isolasi dan identifikasi senyawa yang berpotensi sebagai antitumor pada daging buah pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal kimia*. 2 : 1907-9850.