

UJI FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG KRATOM (*Mitragyna speciosa* Korth.) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

PHYTOCHEMICAL TEST AND TOXICITY TEST OF KRATOM STEM BARK (*Mitragyna speciosa* Korth.) ETHANOL EXTRACT USING THE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD

Imam Rohadi*, Erwin, Abdul Aziz

Program Studi S1 Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman,
Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, Indonesia

*Corresponding Author: imam.rohadi06@gmail.com

Diterbitkan: 23 April 2024

ABSTRACT

Kalimantan people often use plants as traditional medicine, one of which is the Kratom plant (*Mitragyna speciosa* Korth.). Kratom in low doses can have a stimulant effect and cause narcotic effects at high doses, so this plant is interesting to study for its chemical compound content. The aim of this research is to determine the content of secondary metabolite compounds and the level of toxicity of the kratom stem bark ethanol extract against *Artemia salina* L. larvae. The methods used in this research are extraction, phytochemical tests and the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The results showed that the ethanol extract of kratom stem bark contains alkaloids, triterpenoids, phenolics, flavonoids and quinones. Furthermore, the BSLT test results showed that the ethanol extract of kratom stem bark has a toxicity level of 235.15 ppm in the toxic category ($LC_{50} < 1000$ ppm). Based on these results, it can be concluded that the ethanol extract of kratom stem bark has the potential to have bioactivity because it is toxic to *Artemia salina* L. shrimp larvae.

Keywords: *Phytochemicals, Kratom, Secondary Metabolites, Toxicity.*

PENDAHULUAN

Tumbuhan merupakan sumber daya alam hayati yang melimpah di Pulau Kalimantan. Secara Etnobotani, masyarakat Kalimantan sering memanfaatkan tumbuhan sebagai obat tradisional, salah satunya tumbuhan Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) [1]. Tumbuhan ini juga dikenal dengan nama kadamba, sapat, atau purik yang daunnya berkhasiat untuk meringankan nyeri otot, meredakan demam, diare, dan sakit kepala [2]. Selain itu, kulit batang kratom dimanfaatkan oleh suku Bentian sebagai bahan untuk membuat bedak [3][4].

Kratom adalah salah satu tumbuhan asli Indonesia yang dapat dijumpai di sepanjang daerah aliran sungai seperti sungai Kapuas dan sungai Mahakam. Tumbuhan ini mengandung senyawa alami yang dalam dosis rendah dapat memberikan efek stimulan, namun menimbulkan efek narkotik pada dosis tinggi [1]. Oleh sebab itu, tumbuhan ini menarik untuk dikaji kandungan senyawa kimianya.

Skrining bioaktivitas dari senyawa kimia dapat dilakukan dengan menguji tingkat toksisitas suatu ekstrak menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Tingkat toksisitas dalam uji BSLT dinyatakan dengan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*). Pada uji BSLT ini digunakan larva udang *Artemia salina* L. sebagai hewan uji. Keuntungan dari metode ini yaitu mudah dilakukan, prosesnya cepat, biaya yang murah, dan hasil yang dapat dipercaya [5]. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dan tingkat toksisitas dari ekstrak etanol kulit batang kratom terhadap larva udang *Artemia salina* L.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, pelat mikro, pipet mikro, tip 1000 μ L, kompartemen, *hot plate*, lampu

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



pijar, spatula, batang pengaduk, corong kaca, botol maserasi, gelas kimia, gelas ukur, Erlenmeyer, dan *rotary evaporator*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit batang kratom (*M. speciosa*), etanol 96%, larutan kloroform-amoniak, larutan H₂SO₄ 2 N, pereaksi Dragendorff, larutan asam asetat anhidrat, larutan H₂SO₄ pekat, larutan FeCl₃ 1%, larutan HCl pekat, pita Mg, akuades, larutan NaOH 5%, larutan HCl 2 N, air laut, larutan DMSO 1%, dan larva udang *Artemia salina* L.

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Sampel kulit batang kratom (*M. speciosa*) dibersihkan dan dikering-anginkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung. Sampel yang telah kering selanjutnya dihaluskan dan ditimbang berat keringnya.

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 2232 gram sampel kulit batang kratom (*M. speciosa*) yang telah kering dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 × 72 jam. Hasil maserasi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C, sehingga didapatkan ekstrak etanol kulit batang kratom.

Uji Fitokimia

Ekstrak etanol kulit batang kratom dilarutkan dalam pelarut etanol 96%, lalu dilakukan uji fitokimia menggunakan pereaksi spesifik mengikuti metode Harborne [6] yang telah dimodifikasi.

Uji Alkaloid

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak etanol kulit batang kratom dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan uji kemudian ditambahkan kloroform-amoniak hingga membentuk dua lapisan. Lapisan atas diambil kemudian ditambahkan 10 tetes larutan H₂SO₄ 2 N. Selanjutnya lapisan atas diambil dan ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah-jingga [7].

Uji Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak etanol kulit batang kratom dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya sebanyak 3 tetes pereaksi Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat) ditambahkan ke dalam larutan uji. Adanya senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah-cokelat, sedangkan untuk senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hijau-biru [6].

Uji Fenolik

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak etanol kulit batang kratom dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya sebanyak 3 tetes larutan FeCl₃ 1% ditambahkan ke dalam larutan uji. Adanya senyawa fenolik ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hijau, biru, ungu, atau hitam [6][8].

Uji Flavonoid

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak etanol kulit batang kratom dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan pita Mg dan 3 tetes HCl pekat ke dalam larutan uji. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah [5].

Uji Saponin

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak etanol kulit batang kratom dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan akuades panas ke dalam larutan uji dan dikocok selama 10-15 menit hingga terbentuk busa. Setelah itu, ditambahkan 3 tetes HCl pekat. Apabila busa yang diperoleh tetap stabil menandakan adanya senyawa saponin [6][8].

Uji Kuinon

Sebanyak 1 pipet larutan ekstrak etanol kulit batang kratom dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes larutan NaOH 5% dan dihomogenkan, lalu ditambahkan 3 tetes larutan HCl 2 N. Adanya senyawa kuinon ditandai dengan perubahan warna seperti semula [9].

Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Ekstrak etanol kulit batang kratom dilakukan uji BSLT berdasarkan metode Meyer [10] yang telah dimodifikasi.

Penetasan Larva Udang *Artemia salina* L.

Sebanyak 10 mg kista *Artemia salina* L. dimasukkan ke dalam kompartemen yang telah berisi 500 mL air laut. Didiamkan selama 1-2 hari hingga kista menetas.

Pembuatan Larutan Uji

Sebanyak 1 mg ekstrak etanol kulit batang kratom (*M. speciosa*) dilarutkan dalam 100 μ L larutan DMSO 1%. Selanjutnya larutan diencerkan dengan menambahkan 150 μ L akuades. Sebanyak 200 μ L larutan tersebut diambil dan diencerkan kembali dengan menambahkan 600 μ L akuades, sehingga didapatkan larutan ekstrak etanol kulit batang kratom 1000 ppm sebanyak 800 μ L. Larutan ekstrak etanol kulit batang kratom 1000 ppm tersebut kemudian diencerkan hingga diperoleh variasi konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 ppm. Selanjutnya, prosedur yang sama diulangi untuk pembuatan larutan kontrol, hanya saja tanpa penambahan sampel.

Uji Toksisitas

Sebanyak 100 μ L larutan uji dimasukkan ke dalam pelat mikro. Selanjutnya sebanyak 100 μ L air laut yang berisi 10 ekor larva udang *Artemia salina* L. ditambahkan ke dalam pelat mikro yang telah berisi larutan uji. Setelah 24 jam, jumlah larva udang *Artemia salina* L. yang mati dihitung untuk menentukan nilai *Lethal Concentration* 50% (LC_{50}). Nilai LC_{50} dihitung menggunakan analisa probit dengan *Microsoft Excel*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi diawali dengan mengumpulkan sampel kulit batang kratom (*M. speciosa*) yang diperoleh di Desa Sumber Sari, Kecamatan Loa Kulu, Kabupaten Kutai Kartanegara. Sampel kemudian dibersihkan dan dikering-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung yang bertujuan untuk menurunkan kadar air dalam sampel agar tidak mudah ditumbuhi jamur. Sampel yang telah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk untuk memperluas permukaan sampel, sehingga proses kontak pelarut dengan sampel lebih maksimal dan senyawa metabolit sekunder yang tertarik lebih banyak. Setelah itu, serbuk kulit batang kratom ditimbang dan diperoleh berat keringnya sebesar 2232 gram.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3×72 jam. Ketika maserasi berlangsung sampel akan mengalami proses pemecahan dinding sel karena tekanan di dalam dan di luar sel berbeda, sehingga senyawa metabolit sekunder yang berada di dalam sel akan ikut tertarik dalam pelarut organik yang digunakan. Pada proses maserasi dilakukan pengadukan secara berkala agar konsentrasi larutan di dalam wadah maserasi seimbang dan hasil maserasi lebih maksimal. Hasil maserasi kemudian disaring hingga didapatkan filtrat. Selanjutnya filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, dimana pelarut akan menguap pada titik didih yang lebih rendah karena adanya pengaruh tekanan yang diperkecil. Ekstrak etanol kulit batang kratom kemudian ditimbang dan diperoleh beratnya sebesar 136 gram, sehingga didapatkan rendemen sebesar 6,09%.

Uji fitokimia merupakan salah satu metode skrining secara kualitatif yang bertujuan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu tumbuhan [11]. Uji fitokimia dilakukan berdasarkan uji warna dan uji busa terhadap senyawa alkaloid, triterpenoid, steroid, fenolik, flavonoid, saponin, dan kuinon. Adapun kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol kulit batang kratom dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kratom

No.	Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil Uji	Keterangan
1.	Alkaloid	+	Endapan jingga
2.	Triterpenoid	+	Larutan merah
3.	Steroid	-	Larutan merah
4.	Fenolik	+	Larutan hitam
5.	Flavonoid	+	Larutan merah
6.	Saponin	-	Tidak ada busa
7.	Kuinon	+	Larutan cokelat

Keterangan:

(+) = Terdapat senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

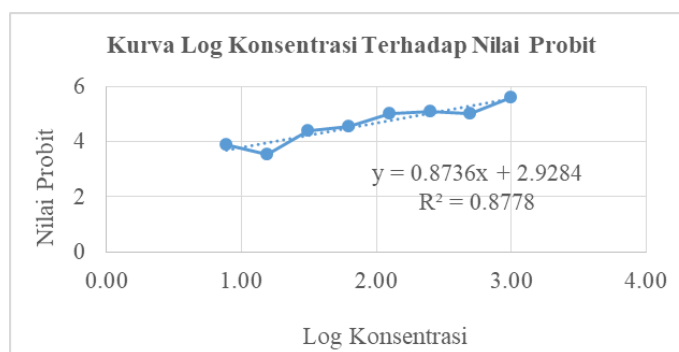
Berdasarkan hasil uji fitokimia pada **Tabel 1**, ekstrak etanol kulit batang kratom mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, fenolik, flavonoid, dan kuinon. Senyawa-senyawa tersebut memiliki bioaktivitas yang tinggi seperti antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, dan antikanker sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan obat [9]. Senyawa alkaloid dapat dideteksi menggunakan metode Culvenor-Fitzgerald dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan adanya perubahan warna dari coklat menjadi endapan jingga berupa kalium-alkaloid. Golongan senyawa triterpenoid dapat dideteksi menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan adanya perubahan warna dari coklat menjadi larutan merah. Senyawa fenolik dapat dideteksi dengan pereaksi FeCl_3 1% menunjukkan adanya perubahan warna dari coklat menjadi hitam berupa kompleks besi (III) heksafenolat. Senyawa flavonoid terutama flavonol dapat dideteksi dengan metode Wilstater-Cyanidin menunjukkan adanya perubahan warna dari coklat menjadi merah berupa kation flavilium. Senyawa saponin dapat dideteksi dengan metode Forth yang ditandai dengan terbentuknya busa, namun dalam ekstrak etanol kulit batang kratom tidak terbentuk busa. Selanjutnya senyawa kuinon dapat dideteksi dengan reaksi penggaraman dan hidrolisis kuinon menunjukkan adanya perubahan warna dari coklat menjadi endapan coklat kemerahan kemudian warna larutan kembali berubah menjadi coklat [6]. Senyawa-senyawa tersebut dapat tertarik dengan baik oleh pelarut etanol sebab etanol merupakan pelarut yang bersifat semipolar cenderung polar, sehingga mampu menarik senyawa polar dan senyawa non polar.

Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk mengetahui potensi bioaktivitas suatu ekstrak berdasarkan sifat toksik dari senyawa [12]. Uji BSLT dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L. sebagai hewan uji karena memiliki sel dengan respon dan sensitivitas terhadap stress lingkungan yang mirip dengan sel manusia yaitu tipe DNA-dependent RNA polymerase [13]. Pada uji BSLT digunakan beberapa variasi konsentrasi yang bertujuan untuk mengetahui besarnya nilai LC_{50} yang menyatakan kematian 50% populasi hewan uji. Adapun hasil uji BSLT dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Uji BSLT Ekstrak Etanol Kulit Batang Kratom

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log Konsentrasi	Jumlah Larva (ekor)	Jumlah Larva Mati (ekor)					Mortalitas (%)	Nilai Probit
			I	II	III	Rata-rata	Kontrol		
1000	3,00	10	8	9	8	8,3	1	73,3	5,61
500	2,70	10	6	5	4	5,0	0	50,0	5,00
250	2,40	10	9	4	6	6,3	1	53,3	5,08
125	2,10	10	7	6	8	7,0	2	50,0	5,00
62,5	1,80	10	7	2	1	3,3	0	33,3	4,56
31,25	1,49	10	6	3	5	4,7	2	26,7	4,39
15,625	1,19	10	0	1	4	1,7	1	6,67	3,52
7,8125	0,89	10	4	0	0	1,3	0	13,3	3,87

Berdasarkan data yang ada di **Tabel 2**, dapat dibuat regresi linier antara log konsentrasi terhadap nilai probit. Analisa probit digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} karena variabel respon bersifat biner.



Gambar 1. Kurva Uji BSLT Ekstrak Etanol Kulit Batang Kratom

Berdasarkan kurva regresi linier yang terdapat pada **Gambar 1**, didapatkan persamaan garis $y = 0,8736x + 2,9284$ dengan nilai $R^2 = 0,8778$, sehingga dapat dihitung besarnya nilai LC_{50} dengan cara mensubstitusi nilai $y = 5$ (nilai probit 50% kematian hewan uji) ke persamaan tersebut. Selanjutnya mengubah nilai x menjadi anti log x , sehingga didapatkan nilai LC_{50} dari ekstrak etanol kulit batang kratom sebesar 235,15 ppm dengan kategori toksik. Adapun kategori toksisitas dalam uji BSLT menurut Meyer yaitu sangat toksik ($LC_{50} < 30$ ppm), toksik ($31 \text{ ppm} < LC_{50} < 1000$ ppm), dan tidak toksik ($LC_{50} > 1000$ ppm). Suatu ekstrak dengan nilai $LC_{50} < 30$ ppm berpotensi sebagai kandidat obat antikanker karena adanya korelasi antara tingkat toksisitas dengan aktivitas antikanker [10].

Mekanisme kematian larva udang *Artemia salina* L. berkaitan dengan fungsi senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit batang kratom seperti alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid. Adapun sistem kerja dari senyawa alkaloid yaitu membuat larva udang gagal mendapatkan stimulus rasa dan tidak mampu mengenali makanannya dengan cara menghambat reseptor perasa yang ada di mulut larva sehingga larva udang mati kelaparan [14]. Sementara itu, cara kerja dari senyawa flavonoid yakni bertindak sebagai racun perut (*stomach poisoning*) yang dapat menurunkan aktivitas enzim pada sistem pencernaan larva udang [15]. Selain itu, senyawa flavonoid bekerja dengan cara menghambat transport ion Na^+ dan K^+ sehingga ion Na^+ dan K^+ dalam membran sel tidak terkontrol yang menyebabkan pecahnya membran sel [16]. Selanjutnya cara kerja dari senyawa triterpenoid yaitu berkompetisi dengan kolesterol, sehingga penyerapan kolesterol dalam usus berkurang. Berkurangnya kolesterol dalam tubuh larva udang menyebabkan ketidakseimbangan sistem metabolisme dan menyebabkan kematian terhadap larva udang *Artemia salina* L [17].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit batang kratom mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, fenolik, flavonoid, dan kuinon yang berpotensi memiliki bioaktivitas karena bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L. dengan nilai LC_{50} sebesar 235,15 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada kepala laboratorium dan laboran Laboratorium Kimia Organik, Laboratorium Biokimia, dan Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman atas segala bentuk bantuannya dalam melakukan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Raini, M. (2017). Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth): Manfaat, Efek Samping dan Legalitas. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 27(3), 175–184.
- [2] Setyawati, H., & Lestari, S. P. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kratom (*Mitragyna speciosa*) dengan Metode 1,1 Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). *Jurnal Farmasi Udayana*, 9(3), 213–220.
- [3] Wahyono, S., Widowati, L., Handayani, L., Sampurno, O. D., Haryanti, S., & Mery, B. S. (2019). *Kratom: Prospek Kesehatan dan Sosial Ekonomi*. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (LPB).
- [4] Mislana, Hendra, M., Lariman, Trimurti, S., Anwar, Y., & Aprianti, D. A. (2022). *Laporan Studi Keanekaragaman Hayati di Danau Kaskade Mahakam Tahun 2022*. Samarinda: Dinas Lingkungan Hidup Provinsi Kalimantan Timur.
- [5] Maulina, S., Pratiwi, D. R., & Erwin. (2019). Skrining Fitokimia dan Bioaktivitas Ekstrak Akar *Uncaria nervosa* Elmer (Bajakah). *Jurnal Atomik*, 4(2), 100–102.
- [6] Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (2 ed.). Institut Teknologi Bandung.
- [7] Marliana, E., & Saleh, C. (2017). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi n-Heksana, Etil Asetat dan Metanol dari Buah Labu Air (*Lagenari siceraria* (Molina) Standl). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(11), 63–69.
- [8] Tullah, M. H., Marliana, E., & Erwin. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Buah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* (L.) Kunt.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Atomik*, 8(2), 54–59.

- [9] Erwin, Nuryadi, D., & Usman. (2020). Skrining Fitokimia dan Bioaktivitas Tumbuhan Bakau Api-Api Putih (*Avicennia alba* Blume). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(4), 311–315.
- [10] Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., & McLaughlin, J. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45(05), 31–34.
- [11] Erwin, E., Pusparohmana, W. R., Sari, I. P., Hairani, R., & Usman, U. (2018). Phytochemical and Antioxidant Activity Evaluation of The Bark of Tampoi (*Baccaurea macrocarpa*) [version 1; referees: awaiting peer review]. *F1000Research*, 7, 1977–1985.
- [12] Karolina, A., Pratiwi, D. R., & Erwin. (2018). Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Merung (*Coptosapelta tomentosa* (Blume)). *Jurnal Atomik*, 3(2), 79–82.
- [13] Anisa, N. N., Kartika, G. S., Majid, V. A. A., Azizah, W., Arni, & Erika, F. (2018). Penentuan LC₅₀ Ekstrak 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*, 4(6), 569–576.
- [14] Arsindho, Y., Erwin, & Wijayakusuma, I. (2017). Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Kayu Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco.) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Prosiding Nasional Kimia FMIPA UNMUL*, 137–142.
- [15] Nurbaiti, & Rahmawati, N. (2022). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata*) (Lour.) Merr dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Kesehatan As-Shiha*, 2(2), 157–166.
- [16] Nursal, Wulandari, S., & Rio, B. S. (2016). Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Batang Rengas (*Gluta renghas*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina*. *Jurnal Biogenesis*, 13(1), 11–18.
- [17] Sukandar, D., Hermanto, S., & Lestari, E. (2017). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Media Neliti*, 11(1), 32–38.