



## Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 70% Daun Hulotua (*Commelina longifolia*) Secara In Vitro dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

A. Muthi Andi Suryadi<sup>1\*</sup>, Mahdalena Sy. Pakaya<sup>2</sup>, Muhammad Taupik<sup>3</sup>, Wiwit Zuriati Uno<sup>4</sup>, Mohamad Reski Manno<sup>5</sup>, Alda Farista Kopman<sup>6</sup>.

<sup>1,2,3,4,5,6</sup> Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

\* Penulis Korespondensi. Email: [a.muthi@ung.ac.id](mailto:a.muthi@ung.ac.id) (Phone/Whatshapp : 082142220770)

### ABSTRACT

All chemical substances classified as drugs must undergo evaluation for their toxicological qualities prior to widespread acceptance in traditional medicine by the community. The Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method is a preliminary test using shrimp larvae to observe the toxic effects of a compound in plant extracts. This study aimed to determine the toxicity of 70% ethanol extract of Hulotua (*Commelina longifolia* L.) leaves in vitro using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. This study employed an experimental method through phytochemical screening using a color test and toxicity testing using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The results of phytochemical screening using the tube test method indicated that 70% ethanol extract was positive for alkaloids, flavonoids, tannins and terpenoids. In the meantime, an acute toxicity test of 70% ethanol extract of Hulotua (*Commelina longifolia* L.) leaves was slightly toxic to *Artemia salina* larvae where the LC<sub>50</sub> value >1000 µg/mL was 670.049 µg/mL.

### Keywords:

Toxicity Test, *Commelina longifolia*, Secondary Metabolites, BSLT

**Received:**  
2024 -07-04

**Accepted:**  
2024 -12-27

**Online:**  
2024 -12-27

### ABSTRAK

Setiap bahan atau zat kimia yang merupakan obat harus diteliti sifat toksiknya sebelum diperbolehkan penggunaannya secara luas agar obat tradisional dapat diterima dikalangan masyarakat. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan uji pendahuluan dengan menggunakan larva udang untuk mengamati efek toksik suatu senyawa dalam ekstrak tumbuhan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui untuk mengetahui toksisitas ekstrak etanol 70% daun Hulotua (*Commelina longifolia*) secara in vitro dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT). Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan cara skринing fitokimia menggunakan uji warna dan pengujian toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil Skринing fitokimia menggunakan metode uji tabung menunjukkan ekstrak etanol 70% positif alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid. Uji toksisitas akut ekstrak etanol 70% menggunakan metode BSLT didapatkan Ekstrak etanol 70% daun Hulotua (*Commelina longifolia*) bersifat sedikit toksik pada Larva *Artemia salina* dimana nilai LC<sub>50</sub> > 1000 µg/mL yaitu 670,049 µg/ mL.

### Kata Kunci:

Uji Toksisitas, *Commelina Longifolia*, Metabolit Sekunder, BSLT

Diterima:  
04-07-2024

Disetujui:  
27-12-2024

Online:  
27-12-2024

## 1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan flora dan fauna alam yang sangat melimpah. Di antara kekayaan flora tersebut, banyak diantaranya yang termasuk dalam kategori tumbuhan obat. Terdapat 20.000 jenis tumbuhan obat yang terdata dan sekitar 1.000 jenis tumbuhan telah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional [1]. Obat tradisional merupakan suatu obat dari bahan alam berupa tanaman, mineral, bahan hewan yang secara turun temurun telah digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai penyakit tertentu. Menurut Kemenkes RI [2], ditemukan bahwa prevalensi penduduk Indonesia di atas 15 tahun yang pernah mengonsumsi obat tradisional sebanyak 59.12%, tersebar di berbagai daerah di Indonesia. Obat tradisional banyak digunakan oleh masyarakat dikarenakan relatif lebih sedikit efek samping bahkan tidak ada dibandingkan dengan obat sintesis. Selain itu obat tradisional juga lebih murah dan mudah didapatkan di alam bebas atau dibudidayakan [3].

Berdasarkan Riset tumbuhan obat dan jamu [4], provinsi Gorontalo memiliki 304 jenis tanaman obat dan 194 ramuan obat dari 5 etnis yaitu Bajo, Bone, Atinggola, Polahi dan Boalemo. Hal ini menunjukkan Gorontalo mempunyai potensi untuk pengembangan obat tradisional ke depan. Kekayaan sumber hayati ini berpeluang untuk peningkatan penggunaan obat tradisional berdasarkan kearifan lokal. Namun masih banyak tumbuhan obat yang belum diketahui secara luas pemanfaatannya salah satu jenis tanaman yang belum banyak diketahui oleh masyarakat adalah tanaman dari family commelina.

Commelina merupakan tanaman yang terdiri dari 652 spesies tumbuhan tersebar di wilayah tropis dan beriklim sedang di dunia. Genus Commelina dengan 170 spesies merupakan yang terbesar dalam famili Commelinaceae. Beberapa jenis tanaman Commelina memiliki manfaat sebagai obat tradisional yang telah lama digunakan oleh masyarakat yaitu Commelina diffusa, Commelina benghalensis, Commelina communis, Commelina arcta dan Commelina longifolia L [5].

*Commelina longifolia* adalah tanaman dari famili Commelinaceae dimana spesies ini tersebar luas diseluruh wilayah beriklim hangat di dunia, seperti di Afrika, pasifik dan Asia. *Commelina longifolia* dapat tumbuh di rawa-rawa, hutan, semak belukar, tepi sungai dan tempat terbuka yang lembab. Karena spesies ini dapat bereproduksi secara seksual dan aseksual sehingga berpotensi tumbuh dengan sangat cepat. Secara empiris masyarakat Gorontalo memanfaatkan *Commelina longifolia* (Hulotua) sebagai obat penurun demam.

Pemanfaatan Hulotua (*Commelina longifolia*) sudah terbukti secara empiris untuk mengobati masalah kesehatan. Namun khasiat empiris juga harus didukung oleh bukti-bukti ilmiah adanya manfaat klinik dalam pencegahan atau pengobatan penyakit yang tidak menyebabkan efek samping serius dalam arti aman untuk digunakan. Melihat adanya efek farmakologi dari tanaman hulotua yang dapat mengandung beberapa senyawa kimia sehingga juga dapat berpotensi untuk dikembangkan pemanfaatannya lebih lanjut.

Setiap bahan atau zat kimia yang merupakan obat harus diteliti sifat toksiknya sebelum diperbolehkan penggunaannya secara luas agar obat tradisional dapat diterima dikalangan masyarakat. Uji toksisitas merupakan salah satu persyaratan suatu tanaman dapat dikembangkan sebagai obat. Uji toksisitas akut merupakan uji

pendahuluan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam [6]. Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan uji pendahuluan dengan menggunakan larva udang. metode ini cukup murah, mudah, sederhana, cepat, dan tingkat kepercayaan yang tinggi (95%) untuk mengamati efek toksik suatu senyawa dalam ekstrak tumbuhan. Cara kerjanya berdasarkan pada prinsip pengaruh bahan aktif terhadap jumlah kematian organisme larva udang [7].

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian uji toksisitas akut daun Hulotua (*Commelina longifolia*) untuk melihat efek toksik senyawa yang ada pada tanaman agar penggunaanya lebih aman dan juga dapat dikembangkan pemanfaatanya lebih lanjut.

## 2. Metode

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dan pengujian toksisitas pada ekstrak etanol 70% daun Holotua (*Commelina Longifolia*) Secara *in vitro* dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

### Alat

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu aerator, batang pengaduk, cawan porselen, corong kaca, erlenmeyer, gelas beaker, gelas ukur, hot plate, neraca analitik, pipit tetes, rak tabung, spatula, seperangkat alat uji BSLT, tabung reaksi, vial, dan wadah maserasi.

### Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu aquadest, aluminium foil, DMSO, etanol 70%, ekstrak Daun Hulotua (*Commelina longifolia*), FeCl<sub>3</sub>, HCl pekat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, larva udang (*Artemia salina* Leach), NaCl 0,9%, reagen dragendorff, reagen mayer, serbuk Mg, dan tisu.

### Preparasi Sampel

Daun Hulotua (*Commelina longifolia*) diambil di Desa Haya-Haya, Kecamatan Limboto Barat, Kabupaten Gorontalo, Sampel dipanen pada pukul 09.00-11.00 WITA, disortasi basah lalu dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dirajang dan dikerignkan hingga kadar air dalam sampel berkurang. sebanyak 200 gram sampel daun Daun Hulotua (*Commelina longifolia*) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara dimasukan kedalam wadah kaca dan direndam menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2 liter hingga sampel terendam sempurna di tutup rapat selama 24 jam dengan dilakukan sesekali pengadukan. Filtrat yang dihasilkan dilakukan evaporasi menggunakan rotary evaporator agar memperoleh ekstrak kental dan dihitung %rendamen.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat sampel awal}} \times 100 \%$$

## **Skrining Fitokimia**

### **Uji Alkaloid**

Sebanyak 3 mL ekstrak ditambahkan pereaksi Dragendorff kemudian dikocok. Hasil positif akan terbentuk endapan berwarna jingga yang menandakan positif mengandung alkaloid [8].

### **Uji Flavonoid**

Sebanyak 3 mL ekstrak ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga [8].

### **Uji Tanin**

Sebanyak 3 mL ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes FeCl<sub>3</sub> 10%. Jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin, perubahan warna yang terjadi disebabkan reaksi penambahan FeCl<sub>3</sub> dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Penambahan FeCl<sub>3</sub> yang menyebabkan perubahan warna menunjukkan adanya tanin terkondensasi [8].

### **Uji Saponin**

Sebanyak 3 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu didinginkan, kemudian dikocok selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit [8].

### **Uji Terpenoid dan Steroid**

Sebanyak 3 mL ekstrak ditambahkan CH<sub>3</sub>COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat sebanyak 2 tetes, kemudian dikocok dan dibiarkan selama beberapa menit. Adanya terpenoid akan terbentuk warna coklat atau ungu. Sedangkan uji steroid yakni sebanyak 3 mL ekstrak ditambahkan CH<sub>3</sub>COOH glasial sebanyak 10 tetes dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat sebanyak 2 tetes, kemudian dikocok dan dibiarkan selama beberapa menit. Adanya steroid akan terbentuk warna biru atau hijau [8].

## **Penyiapan Larva Udang**

Telur *Artemia salina* ditetaskan dalam wadah berukuran (30x10x15) cm yang terdiri dari 2 bagian yaitu bagian gelap dan bagian terang yang dipisahkan dengan sekat yang diberi lubang. Salah satu sisi wadah ditutup dengan aluminium foil agar cahaya tidak bisa masuk ke dalam wadah dan sisi lainnya dibiarkan tanpa ditutup dengan aluminium foil. Wadah penetasan dilengkapi dengan lampu sebagai sumber panas di bagian penetasan dan aerator sebagai sumber udara di bagian terang untuk larva hasil penetasan. Telur *Artemia salina* sebanyak 100 mg dimasukkan ke dalam wadah gelap yang berisi air laut buatan sebanyak 1 liter. Bagian atas wadah gelap disinari dengan lampu bohlam sebagai sumber panas dan bagian terang diberi aerator. Telur akan menetas setelah kurang lebih 24 jam terhitung mulai telur ditaburkan. Larva yang digunakan untuk uji adalah larva yang berumur 48 jam mulai dari telur ditaburkan [9].

## **Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji**

Sampel Uji Ekstrak yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 100 µg/ml; 250 µg/ml; 500 µg/ml; 750 µg/ml; dan 1000 µg/ml dalam air laut buatan. Untuk

pembuatan larutan stok konsentrasi 1000 µg/ml adalah ekstrak daun Hulotua ditimbang sebanyak 100 mg kemudian dilarutkan dengan 100 ml air laut buatan. Dari larutan induk ini selanjutnya dibuat lagi konsentrasi 1000 µg/ml, 750 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, dan 100 µg/ml dan dengan cara pengenceran yang dicukupkan dengan air laut buatan hingga 10 ml [10].

### Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

Larutan uji dengan konsentrasi uji 1000 ppm, 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, dan 100 ppm, sebanyak 10 ml (triplo). Dimasukkan larva *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam sebanyak 10 ekor kedalam masing-masing vial. Kemudian vial dibiarkan di tempat terbuka selama 24 jam, setelah 24 jam dihitung jumlah larva yang mati. Kriteria standar mengukur kematian larva adalah apabila larva tidak menunjukkan pergerakan selama pengamatan. Dihitung persentase kematian dan dianalisa menggunakan analisis probit [11].

### Pengelolaan Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis probit dan Microsoft Office Excel untuk mencari regresi linier antara nilai probit dengan log konsentrasi serta disajikan dalam bentuk tabel dan kurva. Adapun pengumpulan data dilakukan dengan mengamati berapa banyak hewan uji yang mati karena ketoksikan suatu senyawa selama 24 jam dengan rumus:

$$\% \text{ Larva} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

Kemudian menentukan nilai LC50 melalui analisis probit untuk melihat perbedaan rata-rata dari dua atau lebih kelompok perlakuan [12].

## 3. Hasil dan Pembahasan

### Ekstraksi daun Hulotua (*Commelina longifolia*)

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Hulotua (*Commelina longifolia*) yang diperoleh di Desa Haya-Haya, Kecamatan Limboto Barat, Kabupaten Gorontalo. Daun yang telah diambil, disortasi basah lalu dikeringkan dan dilanjutkan dengan sortasi kering. Kemudian dilakukan proses ekstraksi senyawa dari daun Hulotua menggunakan metode maserasi Total dengan pelarut Etanol 70 %. Penggunaan etanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi memberikan keuntungan dalam hal efisiensi ekstraksi, keamanan, dan kemurnian ekstraksi dimana sifatnya yang mampu melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat polar, semi polar dan non polar [13]. Adapun keuntungan metode maserasi yaitu alat dan cara yang digunakan sangat sederhana dan juga dapat mengekstraksi semua jenis senyawa dengan presentasi kerusakan zat aktif pada sampel lebih kecil [14]. Hasil ekstraksi daun Hulotua (*Commelina longifolia*) didapatkan ekstrak kental sebanyak 43 gram dengan persen rendemen 21,5 %. Nilai rendemen berkaitan dengan banyaknya kandungan bioaktif yang terkandung pada suatu tumbuhan, semakin tinggi nilai rendemen suatu ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada sampel [15].

Sebelum masuk dalam tahap pengujian, dilakukan uji bebas pelarut terhadap ekstrak etanol 70% daun Hulotua. Ekstrak dikatakan bebas etanol bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol. pengujian bebas pelarut bertujuan agar ekstrak yang akan

digunakan dalam pengujian benar-benar bebas dari pelarut, suatu ekstrak dikatakan bebas dari pelarut etanol ditandai dengan hilangnya bau ester dan bau khas etanol Hasil uji bebas pelarut didapatkan ekstrak kental Hulotua bebas dari pelarut etanol yang ditandai dengan tidak terdapatnya bau ester dan bau khas etanol [16].

### Skrining Fitokimia

**Tabel 1** Hasil Skrining Fitokimia daun Hulotua (*Commelina longifolia*)

Ekstrak	Komponen senyawa					
	Alkaloid	Flavonoid	Tanin	saponin	Terpenoid	Steroid
Etanol 70 %	+	+	+	-	+	-

Sumber data: Data primer yang diolah, 2024

Keterangan : (+) Positif

: (-) Negatif

Tabel 1 menunjukkan data hasil uji skrining fitokimia pada sampel daun Hulotua (*Commelina longifolia*). Pada uji ekstrak etanol 70% mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan terpenoid. Positif mengandung senyawa alkaloid ditandai dengan adanya endapan berwarna jingga pada ekstrak hal ini terjadi karena penggantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K<sup>+</sup> dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap [17]. Positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan adanya reaksi warna hijau setelah penambahan reagen Asam klorida (HCl) dan serbuk Magnesium (Mg) [18]. Positif mengandung senyawa tanin ditandai dengan warna hitam kehijauan setelah penambahan FeCl<sub>3</sub>. Reaksi yang terjadi dikarenakan FeCl<sub>3</sub> melibatkan gugus fenol akan berikatan dengan FeCl<sub>3</sub> membentuk kompleks berwarna biru kehitaman [19]. Adapun positif mengandung senyawa terpenoid yang ditandai dengan adanya warna coklat setelah penambahan reagen. Dalam mekanisme reaksinya, gugus hidrogen dan elektron yang lepas mengalami perpanjangan konjugasi, yang menghasilkan terbentuknya warna coklat kemerahan-ungu [20].

### Uji Toksisitas Daun Hulotua (*Commelina longifolia*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji toksisitas BSLT diujikan pada ekstrak Daun Hulotua (*Commelina longifolia*) dengan kelompok konsentrasi yakni 1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, dan 100 µg/mL. serta kontrol negatif 0 µg/mL.

**Tabel 2.** Hasil Uji Toksisitas Daun Hulotua (*Commelina longifolia*)

Ekstrak	C (µg/mL)	Log	Jumlah Larva Uji	Jumlah Larva Mati				% Mortalitas	Nilai Probit
				1	2	3	Rata-rata		
etanol 70 %	1000	3	10	7	8	6	7	70%	5,52
	750	2,87	10	5	6	5	5,33	53.33%	5,03
	500	2,69	10	3	3	4	3,33	33.33%	4,56
	250	2,39	10	2	2	2	2	20%	4,16
	100	2	10	1	0	0	0,33	3,33%	3,12
LC50 = 670,049 µg/ML									

Sumber data : data Primer yang diolah, 2024

Keterangan :

- C = Konsentrasi uji
- Log C = Logaritma dari Konsentrasi Uji
- % Mortalitas = Persentase Kematian Larva
- Nilai probit = Nilai Toksisitas
- LC50 = Konsentrasi Ekstrak yang Menyebabkan 50% Kematian Larva

Berdasarkan hasil uji BSLT pada tabel 2 ekstrak etanol 70 % daun Hulotua bersifat low toksik atau berada di tingkat ketoksikan yang rendah yaitu dengan nilai LC50 sebesar 670,049  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sehingga berpotensi sebagai anti bakteri. Menurut Salmiati [21] suatu senyawa dikategorikan berdasarkan nilai LC50 sesuai dengan tingkat konsentrasinya, yaitu kategori sangat tinggi (*highly toxic*) dengan konsentrasi 1-10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , sedangkan kategori sedang (*medium toxic*) pada konsentrasi 10-100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , kategori rendah (*low toxic*) pada konsentrasi 100-1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dan kategori tidak toksik pada konsentrasi di atas 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Suatu senyawa yang bersifat toksik saat diuji dengan menggunakan metode BSLT dapat menyebabkan kematian 50% larva artemia dalam waktu 24 jam dan suatu sampel dikatakan sangat toksik jika nilai LC50 <30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  berpotensi sebagai antikanker, bersifat toksik jika nilai LC50 30-1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  berpotensi sebagai anti bakteri dan anti oksidan, serta bersifat tidak toksik jika nilai LC50 >1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  [22].

Adapun untuk adanya kematian pada larva berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam ekstrak, dimana senyawa alkaloid, flavonoid dan tanin pada ekstrak yang berperan sebagai stomach poisoning (racun perut). Hal itu menyebabkan larva mengalami gangguan pada saluran cernanya. Selain itu, senyawa pada ekstrak juga menghambat reseptor rasa yang berada di permukaan mulut larva Artemia. sehingga larva tidak bisa mendeteksi makanan dan akhirnya mati karena kelaparan ([23], [24]).

#### 4. Kesimpulan

Kesimpulan berisi deskripsi yang harus menjawab tujuan penelitian. Berikan kesimpulan yang jelas dan ringkas. Jangan mengulangi abstrak atau hanya menggambarkan hasil penelitian. Berikan penjelasan yang jelas tentang kemungkinan aplikasi dan / atau saran yang terkait dengan temuan penelitian. Ditulis dalam bentuk paragraph bukan penomoran.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa hasil skrining fitokimia dengan metode uji tabung daun Hulotua (*Commelina longifolia*) mengandung senyawa Alkaloid, flavonoid, tanin dan terpenoid Adapun hasil uji Toksisitas akut ekstrak etanol 70% daun Hulotua (*Commelina longifolia*) menggunakan metode BSLT bersifat sedikit toksik pada Larva Artemia salina karena nilai LC50 > 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  yaitu 670,049  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

#### Referensi

- [1] Susilo Yulianto, 2017. *Penggunaan Tanaman Herbal Untuk Kesehatan*. Jurnal Kebidanan Dan Kesehatan Tradisional, Volume 2, No 1, hlm 1-59
- [2] Riset Kesehatan Dasar, 2010. *RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI
- [3] Pramono, S., 2002, Kontribusi bahan obat alam dalam mengatasi krisis bahan obat di Indonesia, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 1(1), 18-20.

- [4] Riset Tumbuhan Obat dan Jamu 2017. *Riset Khusus Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin dan Tumbuhan Obat Berbasis Komunitas Di Indonesia. Pedoman Pengumpulan Data*. Kementerian Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- [5] Faden Robert, 2006. "*Commelina*", dalam *Flora of North America Editorial Committee, eds. 1993+*, Flora of North America online, 22, New York & Oxford: Oxford University Press
- [6] Jumain., Syahrini, F. T., Farid, 2018. *Uji Toksisitas Akut Dan Ld50 Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (Eupatorium Odoratum Linn) Pada Mencit (Mus musculus)*. Media Farmasi Vol. XIV. No. 1.
- [7] Kurniawan, B., & Aryana, W. F. 2015. *Binahong (Cassia Alata L) As Inhibitor Of Escherichiacoli Growth*. Jurnal Majority, 4(4)
- [8] Agustina, Ruslan, Agrippina Wiraningtyas. 2016. *Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima*. 1 Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Pendidikan MIPA STKIP Bima, Indonesia. Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry) Volume 4, Nomor 1
- [9] Fitria Susilowati. 2017. *Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Ekstrak Etil Asetat Spons Calthropella sp.* Asal Zona Intertidal Pantai Krakal Gunung Kidul Yogyakarta. Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy 1(1), 1-5
- [10] Ratna Widyasari, Dina Yuspitasari, Wilda Wildaniah, Rosi Cahayuni Wahida 2018, *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (Citrus microcarpa Bunge) Terhadap Larva Artemia salina L.* Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), Medical Sains 51-58
- [11] Hesti Marliza, Dita Oktaviani 2021. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (Colacasia Gigantea Hook.F) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt)*. Akademi Analis Kesehatan Putra Jaya Batam. Bencoolen Journal of Pharmacy.
- [12] Parawansah., Dahlan, N.H., Sulfa, L.Z., dan Nuralifah. 2017. *Aktifitas Antibakteri dan Antifungi Ekstrak Etanol Buah Pare (Momordica charantia L.) terhadap Pertumbuhan Escherichia coli, Staphylococcus aureus dan Candida albicans*. Rakernas fan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia. BSD City Tangerang, Banten.
- [13] Weller, M. G. 2012. *A unifying review of bioassay-guided fractionation, effect-directed analysis, and related techniques*. Sensors, 12(7), 9181-9209.
- [14] Marjoni, M. H. D. 2016. *Dasar-Dasar Fitokimia Untuk Diploma III Farmasi*. Edisi 1. Jakarta: Trans Info Media.
- [15] Surya, A. 2018. *Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Ketapang (Terminalia catappa) Terhadap Larva Artemia salina Leach Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Klinikal Sains: Jurnal Analis Kesehatan, 6(2), 43–47.
- [16] Ayuratri, M. K., and Kusnadi, J. 2017. *Aktivitas antibakteri kombucha jahe (Zingiber officinale)(Kajian varietas jahe dan konsentrasi madu)*. Jurnal Pangan dan Agroindustri, 5(3).
- [17] Hesti Marliza, Dita Oktaviani 2021. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (Colacasia Gigantea Hook.F) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt)*. Akademi Analis Kesehatan Putra Jaya Batam. Bencoolen Journal of Pharmacy.
- [18] Abriyani, E. & Fikayuniar, L. 2020. *Screening Phytochemical, Antioxidant Activity and Vitamin C Assay from Bungo Perak-Perak (Begonia versicolor Irmsch) Leaves*. 10(3), 1-5.
- [19] Sa'adah, L. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing*

- Wuluh (Averrhoa bilimbi L.)*. Skripsi. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- [20] Marlina, S.D., Saleh, C. 2011. *Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Etanol, Fraksi nHeksana, Etil asetat, dan Metanol dari Buah Labu Air (Lagenari Siceraria (Morliana))*. J. Kimia Mulawarman, 8(2): 39-63
- [21] Salmiwanti, S. 2016. *Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi N-Heksana Daun Pegagan (Centella Asiatica L. Urb) dan Uji Antibakteri Terhadap Mycobacterium Tuberculosis (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar)*
- [22] Mayer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. (1982). Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. J Mrdicinal Plant Res Planta Medica 45(1):31-34.
- [23] Ryanata, E., Palupi, S., dan Azminah, A. 2015. *Penentuan Jenis Tanin dan Penetapan Kadar Tanin Dari Kulit Buah Pisang Masak (Musa paradisiaca L.) Secara Spektrofotometri dan Permanganometri*. CALYPTRA, 4(1), 1-16.
- [24] Ngamwonglumlert, L. & Devahastin, S., 2018. *Microstructure and its relationship with quality and storage stability of dried foods*. Food Microstructure and Its Relationship with Quality and Stability, , p. 139–159