

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN
SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) DENGAN
METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)**

***ACUTE TOXICITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF
SALAM LEAF (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) WITH
BSLT METHOD (*Brine Shrimp Lethality Test*)***

Fadli^{*}, Suhaimi, Muhammad Idris
Akademi Farmasi Yarsi Pontianak
Jl.Panglima aim , Pontianak.

Submitted : 29 Juli 2019 Reviewed : 12 September 2019 Accepted: 30 September 2019

ABSTRAK

Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) merupakan tanaman yang berasal dari suku *Myrtaceae*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi toksisitas akut ekstrak etanol daun salam terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) yang ditunjukkan dengan nilai LC₅₀. Penelitian ini menggunakan 180 ekor larva *Artemia salina* Leach yang dibagi menjadi 6 kelompok dengan 1 kelompok kontrol dan 5 kelompok seri konsentrasi ekstrak sebesar 1000, 750, 500, 250, 100 µg / mL yang masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor larva dengan replikasi 3 kali. Nilai LC₅₀ dihitung berdasarkan persentase kematian larva yang dianalisis menggunakan metode probit. Hasil penelitian menunjukkan nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol daun salam sebesar 347,2162 µg / mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam berpotensi toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC₅₀ < 1000 µg / mL.

Kata Kunci: *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp, *Artemia salina* Leach, BSLT, Toksisitas Akut

ABSTRACT

Syzygium polyanthum (Wight) Walp is a plant originating from the *Myrtaceae* family. This research aims to determine the potential acute toxicity ethanol extract of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp folium against *Artemia salina* Leach larvae using *Brine Shrimp Lethality Test* method (BSLT) which is shown by LC₅₀ value. This research used 180 larvae of *Artemia salina* Leach which was divided into 6 groups with 1 control group and 5 groups of concentration series extracts of 1000, 750, 500, 250, 100 µg / mL each group consisted of 10 larvae with replication 3 times. The LC₅₀ calculated based on the mortality of larvae analyzed using probit. The results showed LC₅₀ value ethanol extract of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp leaf 347.2162 µg / mL. It means that ethanol extract of salam *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp is potentially toxic to *Artemia salina* Leach larvae with LC₅₀ values < 1000 µg / mL.

Keywords: *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp, *Artemia salina* Leach, BSLT, Acute Toxicity

Penulis korespondensi:

Fadli
Akademi Farmasi Yarsi Pontianak
Jl. Panglima aim, Pontianak.
Email : fadliapoteker@yahoo.com / 085294700333

PENDAHULUAN

Pengobatan alternatif saat ini telah banyak dikembangkan oleh berbagai negara, termasuklah Indonesia. Salah satunya adalah penggunaan obat dari bahan alam. Penggunaan obat dari bahan alam menjadi pilihan terbaik bagi masyarakat, terutama bagi masyarakat dengan tingkat ekonomi menengah ke bawah. Selain itu obat dari bahan alam lebih aman dibanding obat sintetis. Walaupun demikian bukan berarti obat dari bahan alam tidak memiliki efek toksik jika dikonsumsi berlebihan. Maka daripada itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar toksisitasnya.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat yaitu salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). Bagian dari tanaman salam yang biasa digunakan sebagai pengobatan adalah daunnya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Bahriul, dkk (2014) tentang uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*), ekstrak etanol daun salam memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Studiawan dan Santosa (2005) tentang uji aktivitas hipoglikemik ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*), ekstrak etanol daun *Eugenia polyantha* dengan dosis 2,62 mg/20 g BB dan 5,24 mg/20 g BB dapat menurunkan secara bermakna kadar glukosa darah mencit jantan yang diinduksi dengan aloksan.

Aktivitas hipoglikemik berkaitan dengan senyawa yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan, salah satunya flavonoid. Menurut hasil identifikasi senyawa bioaktif oleh Bahriul, dkk (2014) daun salam mengandung senyawa metabolit sekunder yakni flavonoid, saponin dan tanin. Diantara metabolit sekunder tersebut, flavonoid diperkirakan memiliki peran terbesar terjadinya efek toksik, dimana pada kadar tertentu dapat menyebabkan kematian terhadap hewan coba yaitu larva udang (*Artemia salina* Leach).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) adalah metode yang biasa digunakan dalam pengujian toksisitas akut karena senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas tertentu sering kali bersifat toksik terhadap larva udang (Kristanti, dkk 2008). Prinsip metode ini berdasarkan pada tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach terhadap ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC_{50} (*median lethal concentration*) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan sejumlah 50% kematian larva udang setelah masa inkubasi selama 24 jam. Ekstrak uji dikatakan toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Metode ini sering digunakan karena relatif murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya (Meyer, dkk 1982).

Pada penelitian ini akan dilakukan penelitian uji toksisitas akut pada ekstrak etanol dari daun salam tua terhadap Larva udang *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

METODE PENELITIAN**Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *dry cabinet*, *blender* (Phillips), *rotary vacuum evaporator* (Buchi), batang pengaduk, *termometer*, gelas ukur (Pyrex), gelas beaker (Pyrex), labu takar (Duran), corong, toples kaca bertutup, timbangan (Camry), pH universal (Macherey Nagel), neraca analitik (Excellent), pipet tetes, kertas label, kertas saring, pisau, *blower*, *aluminium foil*, vial, lup (Joyko), lakban hitam, wadah kaca transparan dan lampu neon 40 Watt (Phillips).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol absolute, aquades, natrium klorida (NaCl), magnesium sulfat (MgSO₄), magnesium klorida (MgCl₂), kalium klorida (KCl), kalsium klorida (CaCl₂), natrium hidrokarbonat (NaHCO₃), daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.), telur udang *Artemia salina* Leach, ragi.

Jalannya Penelitian

1. Pengolahan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) yang telah tua, daun tua diambil daun nomor 5 kebawah. Sampel diperoleh dari Kelurahan Sei Jawi Dalam, Kecamatan Pontianak Barat, Kota Pontianak, Provinsi Kalimantan Barat.

Daun salam yang telah dikumpulkan dibersihkan dari kotoran yang melekat, setelah itu daun salam ditimbang sebanyak 2 kg dan kemudian dicuci dengan air mengalir. Daun salam kemudian dirajang kasar, lalu dipotong menjadi potongan-potongan kecil dan dikeringkan menggunakan *dry cabinet* pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Setelah itu, dibersihkan kembali dari pengotor dan ditimbang berat keringnya. Kemudian dihitung rendemen simplisia yang diperoleh.

Sebanyak 200 gram simplisia kering di-*blender* dan simplisia yang telah dihaluskan dimasukkan kebejana maserasi. Simplisia direndam dengan pelarut etanol absolute sebanyak 2 liter selama 2 x 24 jam. Setelah 2 x 24 jam hasil maserasi disaring dan ditampung ke dalam wadah. Maserasi diulangi dengan penggantian pelarut yang sama. Hasil maserasi selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak kental hasil pemekatan ditimbang dan kemudian dihitung rendemen ekstrak yang diperoleh.

2. Pembuatan Konsentasi Ekstrak Uji

Dibuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ sebanyak 100 mL dengan cara melarutkan 100 mg ekstrak kental daun salam kedalam 100 ml air laut buatan. Setelah itu dibuat dengan seri kadar 1000 $\mu\text{g/ml}$, 750 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$ dan 100 $\mu\text{g/ml}$ sebanyak 5 ml dengan cara mengambil masing masing 5 ml, 3,75 ml, 2,5 ml, 1,25 ml dan 0,5 ml dari larutan induk kemudian diencerkan kedalam 5 ml air laut buatan.

3. Penyiapan Larva *Artemia salina* Leach

a. Pembuatan Air Laut Buatan

Pembuatan air laut buatan menurut Mudjiman (1989) dilakukan dengan cara mencampurkan Natrium Klorida (NaCl) sebanyak 5 gram, Magnesium Sulfat (MgSO₄) sebanyak 1,3 gram, Magnesium Klorida (MgCl₂) sebanyak 1 gram, Kalsium Klorida (CaCl₂) sebanyak 0,3 gram, Kalium Klorida (KCl) sebanyak 0,2 gram, Natrium Hidrokarbonat (NaHCO₃) sebanyak 2 gram. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam 1 liter air tawar dan jadilah air laut buatan dengan kadar garam 5 permil. Khusus untuk MgSO₄ sebelum dicampur dengan bahan-bahan lainnya harus dilarutkan dalam air panas terlebih dahulu.

b. Penetasan telur *Artemia salina* Leach

Penetasan telur dilakukan dalam wadah bening dengan menggunakan media air laut. Wadah yang digunakan dibagi menjadi dua bagian oleh sekat berlubang, yaitu bagian gelap dan bagian terang. Sekat berlubang menjadi jalan untuk larva yang telah menetas untuk bergerak secara alamiah ke arah terang. Wadah diisi dengan satu liter air laut buatan. Kemudian pada bagian gelap dimasukkan satu sendok (sendok teh) telur yang sebelumnya telah dicuci dengan cara direndam dengan aquadest selama 1 jam. Pada wadah bagian gelap ditutup dengan aluminium foil atau lakban hitam. Pada wadah bagian terang diberi penerangan dengan cahaya lampu neon 40 Watt agar suhu penetasan 25-30°C tetap terjaga. Telur udang dibiarkan terendam selama 48 jam sampai telur menetas. Telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang sehingga larva udang terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Larva yang telah aktif bergerak siap digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian.

4. Prosedur Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Pada uji toksisitas dengan metode BSLT digunakan larva *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam. Jumlah larva yang digunakan sebanyak 180 ekor larva terbagi dalam 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari 10 ekor larva dengan replikasi atau pengulangan sebanyak 3 kali. Kelompok 1 diberi larutan uji dengan konsentrasi 1000 µg/ml. Kelompok 2 diberi larutan uji dengan konsentrasi 750 µg/ml. Kelompok 3 diberi larutan uji dengan konsentrasi 500 µg/ml. Kelompok 4 diberi larutan uji dengan konsentrasi 250 µg/ml. Kelompok 5 diberi larutan uji dengan konsentrasi 100 µg/ml. Kelompok 6 diberi air laut buatan sebagai kontrol. Pada masing-masing kelompok ditambahkan 1 tetes ragi (0,6 mg/ml) sebagai makanan *Artemia* kemudian diletakkan dibawah penerangan (lampu 40 Watt) yang berjarak 20 cm selama 24 jam.

Diamati kematian larva tiap-tiap kelompok perlakuan dalam 24 jam. Kriteria standar untuk mengukur kematian larva udang yaitu apabila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik pengamatan.

Analisis Data

Data hasil penelitian uji toksisitas diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data dari uji toksisitas tersebut akan dianalisis dengan Analisis Probit serta menggunakan Microsoft Office Excel untuk mencari regresi linier berdasarkan grafik garis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tanaman salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) yang diambil di jalan Tebu, Kelurahan Sungai Beliung, Kecamatan Pontianak Barat, Kota Pontianak, Kalimantan Barat. Sampel tanaman terlebih dahulu dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Balai Penelitian dan Pengembangan Botani, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI Bogor. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan identitas tanaman yang digunakan sehingga kesalahan dalam pengambilan tanaman dapat dihindari dan kemurnian bahan dari tercampurnya dengan tanaman lain dapat terjaga. Berdasarkan surat keterangan dari Pusat Penelitian Biologi LIPI Bogor menyatakan bahwa hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam jenis *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.

Uji toksisitas akut dilakukan terhadap larva *Artemia salina* Leach yang berusia 24 hingga 48 jam pada media air laut buatan. Penggunaan air laut buatan ini untuk mengkondisikan bahwa air laut yang digunakan tidak terkontaminasi atau tercemar karena jika menggunakan air laut asli dikhawatirkan terdapat cemaran atau kontaminasi. Media air laut buatan tersebut dijadikan pengencer ekstrak yang akan dijadikan larutan uji. Pembuatan larutan uji mengacu pada penelitian Kurniawan tahun 2012. Ekstrak dibuat dengan konsentrasi 1000 µg/ml sebagai larutan induk kemudian dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1000 µg/ml, 750 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml dan 100 µg/ml. Larutan uji tersebut dimasukkan kedalam vial uji dimana didalam vial uji tersebut sudah terdapat 10 larva *Artemia salina* Leach, kemudian diberi 1 tetes ragi sebagai makanan bagi larva lalu diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dilihat dan dihitung larva yang mati kemudian dihitung persentase kematiannya. Kriteria standar untuk mengukur kematian larva udang yaitu apabila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama 10 detik pengamatan (Widiyanti, 2010). Kematian larva pada uji ini disajikan dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Kematian Larva Setelah 24 Jam

Jumlah Replikasi	Jumlah Kematian Larva Tiap Konsentrasi					Kontrol
	P1 (1000 µg/ml)	P2 (750 µg/ml)	P3 (500 µg/ml)	P4 (250 µg/ml)	P5 (100 µg/ml)	
1	10	8	5	4	3	0
2	8	6	5	3	2	0
3	8	7	5	4	2	0
Total Kematian	26	21	15	11	7	0
Rata-Rata	8,67	7	5	3,67	2,33	0
Persentase Kematian (%)	86,7	70	50	36,7	23,3	0

Keterangan : P1 = Perlakuan Pertama Konsentrasi 1000 µg/ml

P2 = Perlakuan Kedua Konsentrasi 750 µg/ml

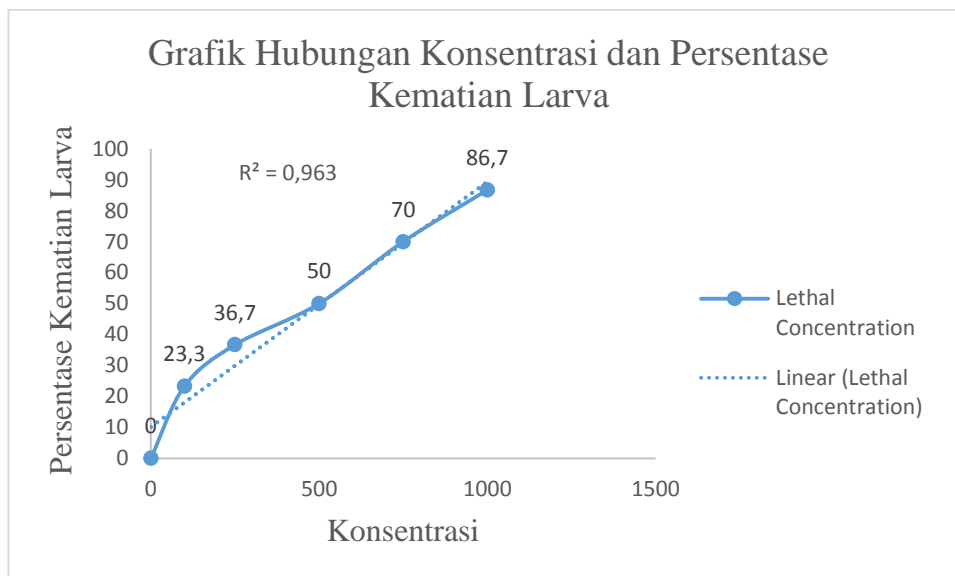
P3 = Perlakuan Ketiga Konsentrasi 500 µg/ml

P4 = Perlakuan Keempat Konsentrasi 250 µg/ml

P5 = Perlakuan Kelima Konsentrasi 100 µg/ml

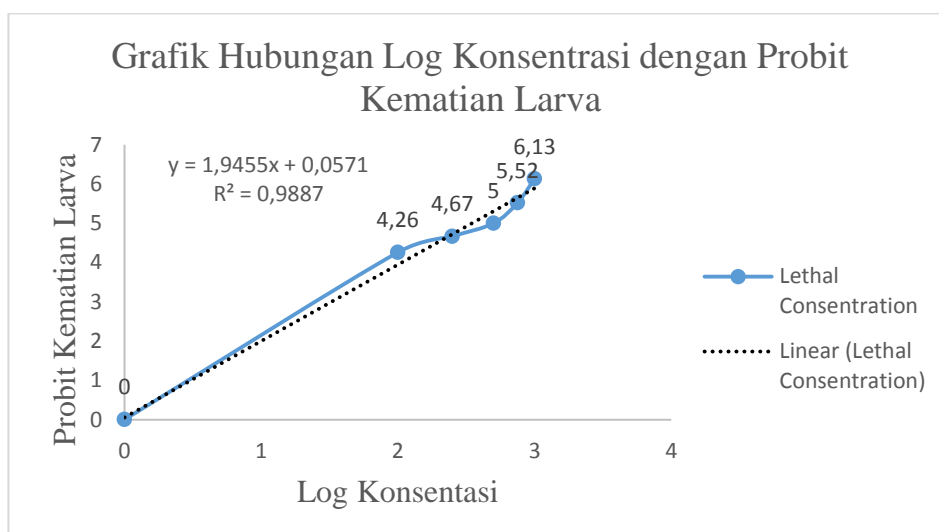
Berdasarkan Tabel 4.1 Hasil Kematian Larva Setelah 24 Jam menunjukkan banyaknya kematian larva udang dan kontrol serta persentase kematiannya. Pada konsentrasi 1000 µg/ml persentase kematiannya sebesar 86,7%, pada konsentrasi 750 µg/ml persentase kematiannya sebesar 70%, pada konsentrasi 500 µg/ml persentase kematiannya sebesar 50%, pada konsentrasi 250 µg/ml persentase kematiannya sebesar 36,7%, konsentrasi 100 µg/ml persentase kematiannya sebesar 23,3% dan pada kontrol persentase kematiannya sebesar 0%. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan semakin tinggi jumlah kematian larva. Metode BSLT dilakukan dengan cara pemaparan larutan ekstrak senyawa yang diuji kepada larva *Artemia salina* Leach. Dengan kata lain, larutan ekstrak senyawa tersebut harus larut sempurna dalam media hidup larva *Artemia salina* Leach yaitu air laut buatan, sehingga konsentrasi sampel yang diperoleh menggambarkan konsentrasi sampel yang sebenarnya.

Pengujian toksisitas akut pada penelitian ini kemudian diolah menggunakan *Microsoft Excel* untuk mencari regresi linier berdasarkan grafik garis. Dari grafik tersebut didapatkan persamaan $y = mx + b$ dan nilai R square (R^2). Adapun grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase kematian disajikan pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik Hubungan Konsentrasi dan Persentase Kematian Larva

Berdasarkan gambar 4.1 diatas terlihat garis *Lethal Concentration* diantara 16-84 % relatif tidak lurus dengan nilai R^2 sebesar 0,963. R^2 adalah kemampuan variabel bebas (konsentrasi) dalam mempengaruhi variabel terikat (kematian). Untuk meluruskan garis tersebut dan mendapat nilai R^2 yang lebih baik dapat dengan memprobitkannya. Adapun grafik log konsentrasi dan probit kematian larva disajikan pada gambar 4.2.



Gambar 4.2 Grafik Hubungan Log Konsentrasi dan Probit Kematian Larva

Berdasarkan gambar 4.2 diatas terlihat garis *Lethal Concentration* yang relatif lurus dibandingkan dengan gambar 4.1. Hal tersebut juga dapat ditunjukkan oleh nilai R^2 yang lebih baik dibandingkan dengan nilai R^2 pada gambar 4.1. Pada gambar 4.2 diatas diketahui nilai R^2 sebesar 0,9887 yang berarti pengaruh ekstrak etanol daun salam dalam membunuh larva bernilai 97,75%. Pada gambar 4.2 diatas terdapat persamaan regresi linier yang digunakan untuk mencari nilai LC_{50} dengan memasukkan angka 5 (probit dari 50%) sebagai y , sehingga diperoleh nilai $5 = 1,9455x + 0,0571$. Nilai y menunjukkan nilai probit kematian larva dan nilai x menunjukkan log konsentrasi. Setelah angka 5 dimasukkan sebagai y dapat diketahui bahwa kemampuan ekstrak etanol daun salam untuk membunuh 50% dari total larva *Artemia salina* Leach terletak pada konsentrasi 347,2162 $\mu\text{g/ml}$.

Hasil LC_{50} tersebut kemudian dibandingkan dengan Tabel 4.1 untuk melihat kesesuaian hasil perhitungan LC_{50} ekstrak etanol daun salam. Pada Tabel 4.1 dapat

diketahui nilai LC₅₀ sebesar 500 µg/ml. Hal tersebut menunjukkan perbedaan nilai LC₅₀ yang dihitung menggunakan metode probit dengan nilai LC₅₀ berdasarkan tabel 4.1. Perbedaan tersebut juga dapat dilihat pada Gambar 4.2 dimana garis Lethal Concentration menyimpang terhadap garis Linear Lethal Concentration pada titik probit 5 sehingga menyebabkan selisih yang cukup jauh. Penyimpangan tersebut disebabkan oleh jumlah replikasi dan hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini. Semakin banyak replikasi dan jumlah hewan uji yang digunakan maka dapat meminimalisir penyimpangan data yang didapatkan.

Suatu senyawa dinyatakan mempunyai potensi toksik jika mempunyai nilai LC₅₀ kurang dari 1000 µg / mL. LC₅₀ (*Median Lethal Concentration*) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50 % hewan percobaan. Pengujian terhadap ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 347,2162 µg / mL. Berdasarkan nilai LC₅₀ yang diperoleh dapat dikatakan ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) pada percobaan ini mempunyai potensi toksik terhadap *Artemia salina* Leach sehingga memiliki potensi toksisitas akut menurut metode BSLT yaitu pada perlakuan dengan hewan coba larva *Artemia salina* Leach. Hal tersebut berkaitan dengan senyawa yang terdapat dalam daun salam yaitu flavonoid, saponin dan tanin dimana pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas akut serta dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. Mekanisme kematian larva diperkirakan berhubungan dengan fungsi senyawa flavonoid, saponin dan tanin dalam daun salam yang dapat menghambat daya makan larva (*antifeedant*). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Menurut Tarumingkeng (1992) racun perut menyerang organ utama pencernaan serangga, yaitu bagian ventrikulus. Menurut Dinata (2008) tentang senyawa flavonoid, saponin dan tanin yaitu: flavonoid dapat menghambat saluran pencernaan serangga dan juga bersifat toksik; saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerap makan pada serangga; tanin dapat menghambat serangga dalam mencerna makanan. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan (Cahyadi, 2009). Berdasarkan uraian di atas peneliti berpendapat bahwa senyawa flavonoid, saponin dan tanin pada daun salam berpotensi toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach melalui mekanisme mengganggu proses pencernaan larva dimana senyawa-senyawa dapat menghambat aktivitas enzim pada larva.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) memiliki potensi toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC₅₀ 347,2162 µg / mL.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Akademi Farmasi Yarsi Pontianak atas semua kontribusinya selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahriul, P., Rahman, N., Diah, A. W. M. (2014). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (Syzygium polyanthum) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil*. Palu: Universitas Tadulako. Jurnal Akademika Kimia Volume 3, No. 3: 143-149
- 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]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Dinata, Arda. (2008). *Ekstrak Kulit Jengkol Atas Jentik DBD*. Diakses: 30 April 2018. <http://artikel.prianganonline.com/index.php?act=artikel&aksi=lihat&id=274>.

- Kristanti, A. N., Nanik, S. A., Mulyadi, T., dan Bambang, K. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Cetakan I. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kurniawan, H. (2012). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Kesum (Polygonum minus Huds) terhadap Larva Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. [Skripsi]. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Meyer BN, N.R. Ferrighni, J.E. Put-nam, L.B. Jacobson, D.E. Nichols, J.L McLaughlin. (1982). *Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituent*. *Planta Medica*, Vol. 45, pp. 31-34
- Mudjiman, Ahmad. (1989). *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*. Jakarta: Bhratara.
- Studiawan, H. dan Santosa, M. H. (2005). *Uji Aktivitas Penurun Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun Eugenia polyantha pada Mencit yang Diinduksi Aloksan*. Surabaya: Universitas Airlangga. *Media Dokter Hewan* Vol. 21 No. 2
- Tarumingkeng, R. C. (1992). *Insektisida, Sifat, Mekanisme Kerja dan Dampak Penggunaannya*. Kanisus. Yogyakarta.
- Widianti, A., Suhardjono. (2010). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Cabai Rawit (Capsicum frutescens) Terhadap Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Diakses: 27 April 2018. <http://eprints.undip.ac.id/23064/>