

UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL 96% DAUN MIANA (*Plectranthus scutellaroides* R.Br) TERHADAP *Artemia salina* DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Dyah Ratna Ayu Puspita Sari¹, Putu Yudha Ugrasena², Ni Putu Ayu Desi Astini³, I Gede Agus Sindhu A.⁴

^{1,3,4}Program Studi Diploma Farmasi, Institut Teknologi dan Kesehatan Bintang Persada, Denpasar, Bali

²Program Studi Sarjana Farmasi Klinis Komunitas, Institut Teknologi dan Kesehatan Bintang Persada, Denpasar, Bali

e-mail: ayupuspitadyah8@gmail.com

Received : September, 2023

Accepted : Oktober, 2023

Published : Oktober, 2023

Abstract

Medicinal plants are one of the efforts used to control disease. The benefits of medicinal plants have been passed down from generation to generation by our ancestors. One plant that has medicinal properties is miana leaves (*Plectranthus scutellaroides* R.Br). In this research, the extraction method used was maceration, with 96% ethanol solvent. Miana leaf ethanol extract was screened for phytochemicals and toxicity tested using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. Toxicity tests were carried out at various concentrations of 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm and 1000 ppm. The results of phytochemical screening on miana leaves show that miana leaves contain flavonoid compounds, tannins, saponins, steroids, but do not contain alkaloids and triterpenoids. The 96% ethanol extract of miana leaves (*Plectranthus scutellaroides* R.Br) has an LC50 value of 511.58 ppm, included in the toxic category with an LC50 value in the range of 30-1000 ppm.

Keywords: Miana leaves (*Plectranthus Scutellaroides* R.Br), LC50, *Artemia Salina*, BSLT

Abstrak

Tanaman obat merupakan salah satu upaya yang digunakan dalam penanggulangan penyakit. Khasiat tanaman obat sudah di wariskan turun-temurun oleh nenek moyang kita. Salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat adalah daun miana (*Plectranthus scutellaroides* R.Br). Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol daun miana skrining fitokimia dan uji toksisitas dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Uji toksisitas dilakukan pada variasi konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Hasil skrining fitokimia pada daun miana menunjukkan daun miana memiliki kandungan senyawa flavonoid, tannin, saponin, steroid, namun tidak mengandung alkaloid dan triterpenoid. Ekstrak etanol 96% daun miana *Plectranthus scutellaroides* R.Br) memiliki nilai LC50 511,58 ppm, termasuk pada kategori toksik dengan nilai LC50 berada pada range 30-1000 ppm.

Kata Kunci: Daun Miana (*Plectranthus scutellaroides* R.Br), LC50, *Artemia salina*, BSLT

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki banyak keanekaragaman hayati dan 40.000 jenis flora yang ada di dunia, terdapat 30.000 jenis flora dijumpai di Indonesia dan 940 jenis diantaranya berkhasiat sebagai tanaman obat tradisional karena relatif murah dan

aman.[1] Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman obat sebagai salah satu upaya penanggulangan suatu penyakit. Pengetahuan tentang tanaman yang berkhasiat sebagai obat diperoleh dari pengalaman dan keterampilan nenek moyang yang telah diwariskan secara turun temurun

dari generasi ke generasi berikutnya.[2] Menurut standar mutu dari WHO, obat tradisional harus memenuhi beberapa persyaratan meliputi kualitas, keamanan, dan khasiat. Penelitian tentang obat tradisional terus dilakukan dan semakin meningkat, mengingat masih banyak obat tradisional yang sampai saat ini masih belum diketahui keamanannya.[3]

Salah satu tumbuhan dimanfaatkan dalam pengobatan adalah daun miana (*Plectranthus scutellaroides* R.Br) secara empiris digunakan untuk obat luka, batuk, TBC, obat wasir, peluruh haid, dan penambah nafsu makan.[3] Daun miana juga digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan diabetes karena memiliki kandungan antioksidan.[4]

Secara eksperimental, daun miana memiliki zat berkhasiat yaitu flavonoid, tanin, dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. [5] Penelitian lainnya oleh Anita *et al.* (2018) menyebutkan ekstrak etanol daun miana mengandung senyawa flavanoid sebesar 8,59 mgRE/gram.[6] Podungge *et al.* (2017) menyebutkan daun miana memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai LC50 sebesar 324,80 ppm.[4] Berkaitan dengan uji toksisitas, penelitian sebelumnya oleh Surahmaida (2023) menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test Method* (BSLT) dengan konsentrasi 1000 µg/mL, 100 µg/mL, 10 µg/mL dalam ekstrak n-heksana serta ekstrak etil asetat menunjukkan hasil daun miana dalam kedua ekstrak tersebut aktif sebagai antioksidan, namun tidak aktif sebagai toksisitas. Hal tersebut ditandai dengan perolehan nilai LC50 ekstrak n-heksana >1000 ppm dan LC50 etil asetat >1000 ppm.[7] Uji toksisitas merupakan uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat dalam sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji.[8]

Suatu zat dikatakan memiliki efek toksik bila nilai *lethal concentration* 50 atau LC50 < 1000 ppm pada untuk ekstrak dan <30 ppm untuk suatu senyawanya. LC50 merupakan konsentrasi suatu ekstrak yang dapat membunuh 50% dari organisme uji yang diestimasi dalam grafik dan perhitungan atau pada pengamatan tertentu.[9] Uji toksisitas dapat dilakukan dengan menggunakan metode BSLT untuk senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Interpretasi nilai BSLT dikatakan toksik bila nilai LC50 <1000 ppm.[10] Uji toksisitas

dengan BSLT dapat dilakukan dengan mengamati jumlah kematian hewan uji *Artemia salina*. [11] Berdasarkan latar belakang di atas, maka diperlukan uji lebih lanjut terkait nilai LC50 ekstrak daun miana terhadap *Artemia salina* dengan menggunakan metode BSLT.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu gelas ukur, gelas Beaker (iwaki), tabung reaksi (iwaki), pipet ukur (iwaki), pipet volume (iwaki), corong kaca (iwaki), batang pengaduk, labu ukur (iwaki), Termometer (Termo Alpa-3), Blender (Vitara), Timbangan analitik (Kenko), aquarium untuk penetasan telur *Artemia salina*, Lampu 40 W (Philips) dan vial.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu daun miana (*Coleus scutellaroides*), aquadest, tween 80, etanol 96%, air laut, larva *Artemia salina*, H₂SO₄, Magnesium (Mg), FeCl₃ 1%, HCl pekat, reagen *Dragendroff*, *Mayer*, *Lieberman Burchard*, Kloroform.

2.2 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental uji toksisitas ekstrak etanol 96% daun miana (*Plectranthus scutellaroides* R.Br) menggunakan metode BSLT.

a. Identifikasi Daun Miana

Sampel daun miana diperoleh dari daerah Abianbase dan dilakukan determinasi di UPT Balai Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya "Eka Karya" BRIN, Bedugul, Bali

b. Ekstraksi Daun Miana

Sampel dilakukan proses pencucian, perajangan, pengeringan, pembuatan serbuk. Pembuatan ekstrak daun miana dilakukan dengan metode maserasi dengan jumlah serbuk 100 g dalam pelarut etanol 96% selama 3 hari. Ampas dilakukan maserasi kembali menggunakan etanol 96% selama 2 hari. Maserat yang diperoleh dilakukan evaporasi pada suhu 50°C, diuapkan di *hotplate* dan *waterbath*. Ekstrak kental yang diperoleh dihitung jumlah rendemen yang diperoleh dengan rumus sebagai berikut: %Rendemen= (bobot serbuk/bobot ekstrak kental) x 100%.

c. Skrining Fitokimia

Dilakukan uji alkaloid terhadap ekstrak daun miana dengan pereaksi *Mayer*, *Wagner*, *Dragendroff* di larutan berbeda. Hasil positif ditandai terbentuknya larutan berwarna jingga dengan endapan coklat.[12] Uji

flavonoid dengan tambahan 2 mg Magnesium, dan 3 tetes HCl pekat, dikocok 10 detik. Bila terjadi perubahan warna merah, kuning, jingga menunjukkan positif terdapat flavonoid.[13] Uji tanin dilakukan dengan penambahan beberapa tetes FeCl₃ menunjukkan adanya tanin bila perubahan warna menjadi biru tua, hitam kehijauan.[13] Uji saponin dilakukan dengan mengambil ekstrak daun miana sejumlah 5 tetes dan ditambahkan 5 mL air panas, dikocok 10 detik. Hasil positif bila terdapat tinggi busa stabil selama ± 10 menit.[14], [15] Uji steroid dan terpenoid dilakukan dengan penambahan kloroform, pereaksi Lieberman Burchard dan H₂SO₄ pekat. Hasil positif mengandung steroid bila terbentuk warna hijau kebiruan dan hasil positif mengandung terpenoid bila warna berubah menjadi merah kecoklatan.[15]

d. Pembiakan Larva *Artemisia salina*

Telur *Artemisia salina* dibiakkan dalam air aquades selama 1 jam dan dilakukan proses pemilihan telur yang baik ditandai dengan tenggelamnya telur di dasar air.[16] Telur kemudian dibiakkan dalam air tawar maupun air laut dengan bantuan garam ikan dan di bawah pencahayaan lampu 40 W. Usia biakan *Artemisia salina* yang digunakan yaitu 48 jam setelah pembiakan.[15]

e. Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Dibuat ekstrak daun miana dalam etanol 96% dengan konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm kemudian diuapkan hingga mengering dan ditambahkan air laut sedikit, tween 80 sejumlah 50 µL, diaduk ditambahkan air laut hingga tanda batas 5 mL vial. Dibuat larutan dalam vial sejumlah 5 mL berisi air laut dan tween 80 sejumlah 50 µL sebagai larutan kontrol.

f. Uji Toksisitas dengan BSLT menggunakan *Artemia salina*

Larva *Artemia salina* berusia 48 jam sejumlah 10 ekor dimasukkan ke dalam vial 10 mL berisikan masing-masing larutan uji dan larutan kontrol dengan 3 kali replikasi. Dibuat larutan kontrol negatif (blanko) untuk masing-masing konsentasi larutan uji dan larutan kontrol tanpa penambahan biakan larva *Artemia salina*. Larutan uji diamati selama 24 jam dan dilakukan pencatatan terhadap jumlah larva *Artemia salina* yang

mati ditandai dengan tidak adanya pergerakan selama observasi.[17]

g. Variabel Penelitian

1) Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak etanol 96% daun miana (*Plectranthus scutellaroides* R.Br).

2) Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini yaitu kadar nilai LC50 ekstrak etanol 96% daun miana (*Plectranthus scutellaroides* R.Br).

h. Analisa Data

Uji toksisitas diamati berdasarkan nilai LC50 diperoleh berdasarkan nilai probit (*probability unit*) persamaan regresi $y = bx + a$, dimana $y =$ angka probit; $x =$ log konsentrasi. Nilai persamaan diolah menggunakan *Microsoft Excel*. Efek toksisitas daun miana dapat diamati melalui perhitungan persen kematian *Artemia salina*. [17]

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Ekstraksi

Berdasarkan proses maserasi daun miana dalam etanol 96% diperoleh jumlah rendemen ekstrak kental sejumlah 7,421%.

3.2 Hasil Skrining Fitokimia

Berikut merupakan hasil uji skrining fitokimia daun miana:

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Daun Miana

Golongan Senyawa	Reagen	Hasil Uji	Hasil Uji Pustaka
Alkaloid	<i>Dragendorff & Mayer</i>	(-)	Terbentuk endapan warna jingga atau kecoklatan.[12]
Flavonoid	Mg, HCl pekat	(+)	Terjadi perubahan warna kuning, merah atau coklat[13]
Tannin	FeCl ₃	(+)	Terjadi perubahan warna biru kehitaman atau hijau kehitaman.[13]
Saponin	HCl 2 N	(+)	Terbentuk buih yang stabil kurang lebih selama 10 menit.[15]
Steroid	<i>Lieberman Burchard</i>	(+)	Terbentuk warna menjadi hijau kebiruan.[15]
Triterpenoid	<i>Lieberman Burchard</i>	(+)	Terbentuk perubahan warna membentuk cincin coklat atau violet.[15]

3.3 Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 96% Daun Miana (*Plectranthus*)

scutellaroides R. Br) terhadap Artemia salina dengan Metode BSLT

Persentase kematian *Artemia salina* pada percobaan ini dapat diamati pada Tabel 2.

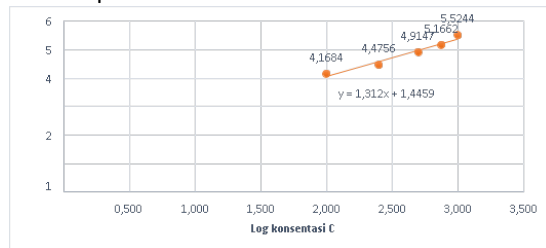
Tabel 2. Persentase Kematian *Artemisia salina*

3.4 Hasil Nilai LC50 Ekstrak Etanol 96%

Konsentrasi Ekstrak Daun Miana (ppm)	Jumlah Larva Hidup	Jumlah Larva Mati	Total Larva	Kematian (%)	Rata-Rata Kematian (%)	LC50 (ppm)
0	10	0	10	0	0	511,58
	10	0	10	0		
	10	0	10	0		
100	8	2	10	20	20	
	8	2	10	20		
	8	2	10	20		
250	7	3	10	30	30	
	7	3	10	30		
	7	3	10	30		
500	5	5	10	50	46,67	
	5	5	10	50		
	4	6	10	40		
750	4	6	10	60	56,67	
	4	6	10	60		
	5	5	10	50		
1000	3	7	10	70	70	
	3	7	10	70		
	3	7	10	70		

Daun Miana (Plectranthus scutellaroides R. Br) terhadap Artemia salina dengan Metode BSLT

Grafik nilai LC50 pada percobaan ini dapat diamati pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Nilai LC50 log Konsentrasi (C) versus Nilai Probit (y) Ekstrak Daun Miana dalam Etanol 96% terhadap Kematian *Artemia salina*

Dari grafik Gambar 1 diperoleh nilai persamaan garis lurus $y = 1,4459x + 1,312$ dengan nilai

variabel X adalah transformasi nilai ppm ke dalam bentuk logaritma. Perolehan nilai LC50 sebesar 511,58 ppm.

3.5 Pembahasan

Metode ekstraksi yang terpilih dalam penelitian ini yaitu metode maserasi yang memiliki keuntungan tidak menggunakan pemanasan, sehingga suatu senyawa bersifat tidak tahan panas dapat terjaga kestabilannya, pemakaian alat mudah, dan tidak memerlukan peralatan yang spesifik.[15] Pelarut etanol 96% memiliki kemampuan menyari yang baik, dapat digunakan pada senyawa polar, non-polar, semi polar.[18]

Perolehan uji skrining fitokimia daun miana positif mengandung flavonoid, tannin, saponin, steroid, dan triterpenoid. Penelitian lainnya oleh Artantyo *et al.*, (2022) menunjukkan hasil skrining uji fitokimia daun miana positif memiliki kandungan flavonoid, tannin, saponin, steroid, dan tidak ditemukan hasil positif untuk alkaloid maupun triterpenoid.[15] Senyawa alkaloid tidak terdeteksi dikarenakan perbedaan daun unsur zat hara di dalam tanah setiap daerah. Faktor lainnya yang dapat mempengaruhi, yaitu iklim, cahaya matahari, suhu udara, lingkungan atmosfer (CO₂, O₂, kelembapan), lingkungan perakaran (sifat fisika dan kimia tanah), serta ketersediaan air di dalam tanah berpengaruh terhadap metabolit sekunder suatu tanaman.[19]

Persentase kematian larva *Artemia salina* terbanyak ditemukan pada larutan uji dengan konsentrasi 1000 ppm dengan persentase kematian sebesar 70% dan terendah pada konsentrasi 100 ppm yaitu 20%. Mekanisme kematian larva *Artemia salina* dikaitkan dengan fungsi senyawa metabolit sekunder, seperti triterpenoid, saponin, dan flavonoid dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* melalui hambatan protein kinase. Hambatan ini akan mengganggu proliferasi dan pertumbuhan sel.[20]

Perolehan hasil uji toksisitas LC50 pada *Artemia salina* sebesar 511,58 ppm. Hasil ini berbeda dengan penelitian lainnya yang pernah dilakukan oleh Astuti *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun miana (*Plectranthus scutellaroides*) varietas *colour blaze dark star* menggunakan microwave memiliki toksisitas tertinggi nilai LC50 sebesar 39 ppm dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, dan 1000 ppm. Varietas lainnya, yaitu *trailing*

queen memiliki nilai LC50 yang lebih tinggi sebesar 41 ppm. Nilai LC50 bila <1000 µg/mL dikatakan toksik dan bila nilai LC50 >1000 µg/mL dikatakan tidak toksik.[21] Penelitian lainnya oleh Artantyo *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun miana merah memiliki nilai LC50 sebesar 323,225 µg/mL dengan kesimpulan toksisitas rendah. Semakin kecil nilai LC50 maka dikatakan semakin toksik suatu zat tersebut.[15]

4. KESIMPULAN

Nilai LC50 dari daun miana (*Plectranthus scutellaroides* R.Br) adalah 511,58 ppm. Termasuk memiliki potensi toksisitas akut karena didapatkan nilai LC50 <1000 ppm.

5. SARAN

Pengamatan terhadap kematian larva sebaiknya dilakukan oleh dua orang atau lebih agar risiko kesalahan berkurang. Perlu dilakukan uji toksisitas isolat terhadap senyawa dari ekstrak etanol 96% daun miana (*Plectranthus scutellaroides* R.Br) yang memiliki potensi toksisitas.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Y. Nuryadin, T. Naid, A. A. Dahlia, dan S. Dali, "Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Serai Dapur dan Daun Alang-Alang Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS," *Wind. Heal. J. Kesehat.*, vol. 1, no. 4, 2018.
- [2] R. Tekha, K. N., Akkas, E., & Kartika, "Ekstrak Kelopak Jantung Pisang Kepok (*Musa Parasisiaca* Linn) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)," *J. Kim. Mulawarman*, hal. 19–22, 2015.
- [3] H. Intan, A & Manggau, Marinati & Cangara, "STUDI HISTOPATOLOGI ORGAN HATI DAN GINJAL DARI TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) SETELAH PEMBERIAN DOSIS TUNGGAL DAN BERULANG EKSTRAK ETANOL PARANG ROMANG (*Boehmeria virgata* (FORST) GUILL)," *Maj. Farm. dan Farmakol.*, vol. 22, no. 64, 2018, doi: 10.20956/mff.v22i2.5704.
- [4] M. R. Podungge, Y. K. Salimi, dan S. Duengo, "Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Miana (*Coleus Scutelleroides Benth.*)," *ambura J. Educ. Chem.*, vol. 12, no. 1, hal. 67–74, 2017.
- [5] Anita, M. Basarang, dan Rahmawati, "UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN MIANA (*Coleus atropurpureus*) TERHADAP *Escherichia coli*," *J. Media Anal. Kesehat.*, vol. 10, no. 1, 2019.
- [6] A. Anita, A.A., Arisanti, D., & Fatmawati, "ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID ESTRAK ETANOL DAUN MIANA (*coleus atropurpureus*)," *Politek. Negeri Ujung Pandang*, hal. 199–203, 2018.
- [7] Surahmida, "Toxicity Test of Cat Whiskers (*Orthosiphon stamineus*) and Miana (*Coleus artropurpureus*) Leaves Against *Artemia salina* Leach Using BSLT.," *J. Biol. Trop.*, vol. 23, hal. 179–185, 2023, doi: 10.29303/jbt.v23i1.4382.
- [8] BPOM, *Pendoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*. Jakarta: BPOM RI, 2014.
- [9] N. Evri, "UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN BAKAU, *Soneratia alba*, TERHADAP ARTEMIA," *Kementrian Kelaut. dan Perikan.*, 2016.
- [10] D. Marliza, Hesti; Oktaviani, "UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMUMU (*Colacasia gigantea* Hook.f) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)," *Bencoolen J. Pharm.*, vol. 1, no. 1, hal. 38–45, 2021.
- [11] H. N. Nuralifah Nuralifah, Parawansah Parawansah, "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)," *Indones. J. Pharm. Educ.*, vol. 1, no. 2, 2021.
- [12] W. Silla, A. C. Hendrik, dan M. Nitsae, "IDENTIFIKASI DAN PENAPISAN ALKALOID PADA JENIS-JENIS TUMBUHAN PAKU (*Pteridophyta*) DI CAGAR ALAM GUNUNG MUTIS," *Indig. Biol. J. Pendidik. dan Sains Biol.*, vol. 3, no. 3, hal. 102–110, 2020.
- [13] P. A.A., N. W. Bogoriani, N. P. Diantariani, dan N. L. Sumadewi, "EKSTRAKSI ZAT WARNA ALAM DARI BONGGOL TANAMAN PISANG (*Musa paradisiaca* L.) DENGAN METODE MASERASI, REFLUKS, DAN SOKLETASI," *J. Chem.*, vol. 8, 2014.

- [14] S. Noer, R. D. Pratiwi, dan E. Gresinta, "Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.)," *J. Ilmu-ilmu MIPA*, vol. 18, no. 1, hal. 19–29, 2018, doi: <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3>.
- [15] L. D. B. Artantyo, Fatimawali, dan O. S. Datu, "SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN MIANA MERAH (*Coleus hybridus*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST(BSLT)," *Pharmacoprogr. Stud. Farm. FMIPA, Univ. SAM RATULANGI*, vol. 11, no. 3, 2022.
- [16] H. S. Supriat, M. Hidayat, S. Lewa, dan M. Y. Simbal, "Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Bintaro terhadap *Artemia Salina* dengan Metode BSLT," *J. Ris. Kefarmasian*, hal. 57–63, 2023.
- [17] D. Saragih, R. Ridwanto, A. Daulay, D. Miswanda, dan H. Nasution, "Toxicity Test of Windu Shrimp (*Penaeus monodon*) Skin Chitosan With Brine Shrimp Lethality Test Method," *Indones. J. Chem. Sci. Technol.*, vol. 5, 2022, doi: 10.24114/ijcst.v5i2.37453.
- [18] N. Wendersteyt, D. Wewengkang, dan S. Abdullah, "UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK DAN FRAKSI ASCIDIAN *Herdmania momus* DARI PERAIRAN PULAU BANGKA LIKUPANG TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* DAN *Candida albicans*," *PHARMACON*, vol. 10, hal. 706, doi: 10.35799/pha.10.2021.32758.
- [19] M. N.N, P. N.P.S, O. I.B.M, dan A. K.W, "Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) yang Diperoleh dari Daerah Ubud, Kabupaten Gianyar, Bali," *J. Farm. Udayana*, vol. 3, no. 1, 2014.
- [20] R. B. Putri, W. Nugrahaningsih, dan N. K. Dewi, "Uji Toksisitas Ekstrak Daun Cassava Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test," *Indones. J. Math. Nat. Sci.*, vol. 44, no. 2, hal. 86–91, 2021.
- [21] A. Astuti, B. Yasir, Subehan, dan G. Alam, "Comparison of two varieties of *Plectranthus scutellarioides* based on extraction method, phytochemical compound, and cytotoxicity," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1341, no. 2, hal. 1341, 2019, doi: doi:10.1088/1742-6596/1341/7/072012.