

Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L. *Folium*) Dari Kabupaten Wajo Terhadap Larva (*Artemia Salina* L.) Dengan Metode BSLT

Toxicity test of ethanol extract of green betel leaf (Piper betle l. folium) from wajo district on larvae (artemia salina l.) using the bslt method

Yani Pratiwi¹⁾, Asyari Al Hutama Azis²⁾ Febiola³⁾

Program Studi D III Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia Makassar
Jln. Garuda No. 3AD.

ABSTRACT

The development of traditional medicine is currently growing rapidly so that traditional medicine is often used among the community. Natural-based medicinal plants have few side effects and if used long term do not cause toxic effects on the body. Green betel leaves (*Piper betle* L. *folium*) are one of the plants used as medicine and contain compounds such as terpenoids, phenols and alkaloids which have cytotoxic capabilities against cancer cells. The BSLT test is an initial screening method used to test the toxicity of an extract or natural compound. The aim of this research was to determine the LC50 value of 96% ethanol extract of green betel leaves (*Piper betle* L. *folium*) from Wajo Regency based on the results of toxicity tests on larvae (*Artemia salina* L.) using the BSLT method. Green betel leaf extract (*Piper betle* L. *folium*) was obtained by maceration using 96% ethanol solvent. This test uses several concentrations, namely 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, and 10 ppm which are given to larvae (*Artemia salina* L.) for 24 hours and then calculate the LC50 value using probit analysis. The lower the LC50 value, the higher the level of toxicity of a compound. The LC50 value obtained was 26.3 ppm, this shows that the 96% ethanol extract of green betel leaves (*Piper betle* L. *folium*) has a very toxic effect on larvae (*Artemia salina* L.).

Keywords : Green betel leaf, Larvae (*Artemia salina* L.), Toxicity, BSLT

ABSTRAK

Perkembangan obat tradisional pada saat ini sangat berkembang pesat sehingga obat tradisional sering digunakan di kalangan masyarakat. Tanaman obat berbahan dasar alami memiliki efek samping yang kecil dan jika digunakan dalam jangka panjang tidak menyebabkan efek toksik pada tubuh. Daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*) menjadi salah satu tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat dan memiliki kandungan senyawa seperti terpenoid, fenol dan alkaloid memiliki kemampuan sitotoksik terhadap sel – sel kanker. Pengujian BSLT merupakan metode skrining awal yang digunakan untuk menguji toksisitas dari suatu ekstrak atau senyawa alami. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai LC50 pada ekstrak etanol 96% daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*) dari Kabupaten Wajo berdasarkan hasil uji toksisitas terhadap larva (*Artemia salina* L.) dengan metode BSLT. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*) diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pengujian ini menggunakan beberapa konsentrasi yaitu 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm yang diberikan kepada larva (*Artemia salina* L.) selama 24 jam kemudian menghitung nilai LC₅₀ menggunakan analisis probit. Semakin rendah nilai LC₅₀ maka semakin tinggi tingkat toksisitas dari suatu senyawa. Nilai LC₅₀ yang diperoleh yaitu sebesar 26,3 ppm, hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*) memberikan efek sangat toksik terhadap larva (*Artemia salina* L.).

Kata kunci : Daun sirih hijau, Larva (*Artemia salina* L.), Toksisitas, BSLT

PENDAHULUAN

Saat ini perkembangan obat tradisional sangat pesat menjadikan obat tradisional dari bahan alam sering digunakan di kalangan masyarakat (1). Obat tradisional adalah obat yang berasal dari tanaman herbal yang sudah dikenal sejak turun temurun. Pengobatan tradisional ini sering digunakan karena biaya yang murah dibandingkan dengan obat modern. Tanaman obat dikenal dengan obat berbahan dasar alami yang memiliki efek samping yang kecil dan jika diberikan dalam jangka panjang tidak menyebabkan efek toksik pada tubuh (2,3).

Tanaman sirih (*Piper betle* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai tanaman obat. Tanaman ini berasal dari famili *Piperaciae* tersebar di daerah tropis dan subtropic. Di Indonesia, tanaman sirih biasa ditemukan di Sulawesi, Maluku, Papua, Pulau Jawa, Sumatra dan Kalimantan. Tanaman sirih (*Piper betle* L.) biasa digunakan sebagai antiinflamasi, antibakteri, antisariawan, antiseptik dan lain-lainnya (4).

Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan oleh (5), daun sirih hijau mengandung senyawa-senyawa aktif seperti minyak atsiri, fenol, kavikol, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid yang memiliki potensi sebagai antibakteri.

Daun sirih hijau memiliki potensi sitotoksik terhadap sel-sel kanker, seperti sel kanker payudara T47D dan sel kanker SCC-40, dan pada nanopartikel tidak ada penurunan viabilitas sel normal. Senyawa bioaktif seperti terpenoid, fenol, dan alkaloid yang terdapat dalam daun sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki kemampuan sitotoksik terhadap sel-sel kanker. Eugenol yang merupakan golongan fenol, salah satu senyawa yang terdapat dalam daun sirih hijau, telah terbukti memiliki efek sitotoksik pada sel kanker payudara, memicu apoptosis dalam sel-sel kanker payudara, serta menghambat proliferasi pada sel kanker payudara (6).

Senyawa sitotoksik merupakan zat yang dapat menghancurkan sel normal dan sel kanker, serta dapat juga menghambat pertumbuhan sel tumor malignan. Metode yang akan digunakan dalam pengujian ini yaitu metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dimana suatu metode uji toksisitas terhadap larva (*Artemia salina* L.). Metode ini bisa digunakan untuk pengujian senyawa yang berpotensi sebagai anti penyakit kronis (4,7).

Larva (*Artemia salina* L.) adalah sejenis udang primitif yang digunakan sebagai hewan coba untuk uji toksisitas pada pengujian metode BSLT. Berdasarkan metode BSLT senyawa dikatakan toksik jika hasil uji ekstrak tersebut memiliki $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ (7).

Skrining toksisitas adalah langkah penting dalam menguji potensi toksisitas bahan alami terhadap organisme kecil sebelum menguji toksisitas pada organisme yang lebih kompleks. Uji keletalan udang air garam adalah metode yang umum digunakan untuk mengevaluasi toksisitas produk alami (2).

Pada penelitian (2), uji keletalan udang air garam untuk menentukan sitotoksitas ekstrak etanol daun sirih hijau menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki toksisitas sedang dengan nilai LC_{50} sebesar $47,8 \mu\text{g/mL}$. Adapun pada penelitian (8), ekstrak etanol daun sirih juga menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara, dengan nilai LC_{50} sebesar $55,2 \mu\text{g/mL}$. Oleh karena itu, skrining toksisitas dari ekstrak etanol 96% daun sirih hijau terhadap larva (*Artemia salina* L.) adalah langkah penting dalam menguji potensi toksisitas bahan alami sebelum menguji toksisitas pada organisme yang lebih kompleks.

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul "Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L. *Folium*) Dari Kabupaten Wajo Terhadap Larva (*Artemia Salina* L.) Dengan Metode BSLT".

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui nilai LC_{50} pada ekstrak etanol 96% daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*) dari Kabupaten Wajo berdasarkan hasil uji toksisitas terhadap larva (*Artemia salina* L.) dengan metode BSLT.

METODE

Jenis, tempat dan waktu

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan kuantitatif untuk menguji efek toksisitas terhadap ekstrak etanol daun sirih hijau. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Program Studi DIII Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia pada bulan Desember 2023 – Januari 2024.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi aerator gelembung, batang pengaduk, blender, corong, erlenmeyer 100 mL, gelas beaker 1000 mL, gelas beaker 100mL, gelas ukur 100mL, gelas ukur 10 mL, gunting, kaca pembesar, kertas saring, lampu berdaya 5 Watt, neraca analitik, pinset, pipet tetes, pisau, *rotary evaporator*, toples kaca, dan vial 5 mL.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquadest, aluminium foil, daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*), etanol 96%, garam non iodium, *handscoon*, kertas label, ragi (fermipan) sebagai makanan larva, telur larva (*Artemia salina* L.) dan tissue.

Prosedur Penelitian

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Daun sirih hijau yang diperoleh dari Kelurahan Mattirowalie, Kecamatan Maniangpajo, Kabupaten Wajo. Pertama-tama, bersihkan dengan mencucinya menggunakan air mengalir hingga bebas dari kotoran dan debu. Setelah itu, biarkan daun sirih mengering dengan cara diangin-anginkan tanpa dijemur di bawah sinar matahari langsung hingga benar-benar kering. Daun sirih hijau yang telah mengering kemudian diubah menjadi serbuk menggunakan alat blender dan diayak untuk mendapatkan serbuk daun sirih hijau yang memiliki tekstur yang halus (9).

Ekstraksi Sampel

Sebanyak 200 g daun sirih hijau diekstraksi menggunakan metode maserasi atau proses perendaman dengan pelarut Etanol 96% sebanyak 2 liter selama 1 hari penuh (24 jam), setelah itu dilakukan penyaringan. Proses ekstraksi ini diulangi sebanyak tiga kali. Ekstrak yang dihasilkan kemudian diuapkan untuk menghilangkan pelarut. Proses penghilangan pelarut dilakukan dengan menggunakan alat evaporator. Hasil akhir dari proses penguapan adalah ekstrak kental etanol (3).

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Uji

Membuat larutan induk 1000 ppm dengan cara menambahkan 0,1 g ekstrak lalu dilarutkan dalam 100 ml etanol 96%. Kemudian untuk konsentrasi 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm digunakan mikropipet dengan larutan yang diambil dari larutan induk untuk pemindahan kedalam vial.

Penyiapan Air Laut Buatan

Sebanyak 20 gr garam non iodium dimasukkan kedalam gelas beaker lalu ditambahkan aquadest sebanyak 1000 mL kemudian diaduk hingga homogen (10).

Penyiapan Larva

Sebanyak 50 mg telur larva (*Artemia salina* L.) ditempatkan dalam wadah khusus yang digunakan untuk menetas larva (*Artemia salina* L.). Wadah tersebut diisi dengan air laut buatan. Selanjutnya, wadah diterangi oleh lampu berdaya 5 watt untuk menjaga suhu dalam wadah agar tetap hangat dan diberikan aerator gelembung sebagai oksigen untuk larva hingga dapat merangsang proses penetasan telur. Telur larva (*Artemia salina* L.) akan menetas dalam waktu 24 jam, larva yang akan digunakan sebagai hewan uji yaitu larva yang berumur 48 jam dan aktif bergerak. Larva yang berumur 48 jam memiliki sifat yang peka, dengan membran sel larva yang masih lembut, sehingga memungkinkan senyawa asing dalam air laut mudah masuk ke dalam tubuh larva (4).

Pembuatan Suspensi Ragi

Sebanyak 3 mg ragi (fermipan) dicampurkan dengan 10 mL air laut dan diaduk sampai homogen. Setelah itu, campuran ragi dimasukkan ke dalam vial dan siap digunakan sebagai pakan untuk larva (*Artemia salina* L.) (11).

Pengujian Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Masukkan *Artemia salina* yang berumur 48 jam masing – masing 10 ekor kedalam vial. Vial yang digunakan yaitu sebanyak 18, kemudian dimasukkan konsentrasi larutan uji 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 10 ppm, serta kontrol negatif berupa air laut buatan. Masing – masing larutan uji dilakukan 3 replikasi. Setelah itu seluruh vial dicukupkan dengan air laut buatan hingga 5 mL. Lalu ditambahkan 1 tetes suspensi ragi kedalam masing – masing vial sebagai pakan larva. Percobaan berlangsung selama 24 jam di bawah lampu 5 Watt (11,12).

Pengolahan dan analisis data

Data hasil penelitian uji toksisitas diproses dan dianalisis dengan persen kematian. Rumus presentasi kematian larva menurut (13) yaitu :

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

Dengan mengetahui saat larva (*Artemia salina* L.) mati, langkah selanjutnya adalah mencari angka probit dengan merujuk pada tabel yang tersedia.

Tabel 1 Nilai probit (14).

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.25	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

Kemudian membuat persamaan garis berdasarkan data, yakni:

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = nilai probit y = 5,00 (kematain 50%)

x = konsentrasi ekstrak lalu di antilog

x antilog merupakan nilai LC₅₀ pada ekstrak

Nilai a dan b diperoleh dari persamaan regresi yang dihasilkan dari pengolahan menggunakan aplikasi *Microsoft Office Excel* (15).

Adapun tabel kategori toksisitas LC₅₀ adalah sebagai berikut:

Tabel 2 Kategori toksisitas (Andini et al., 2021).

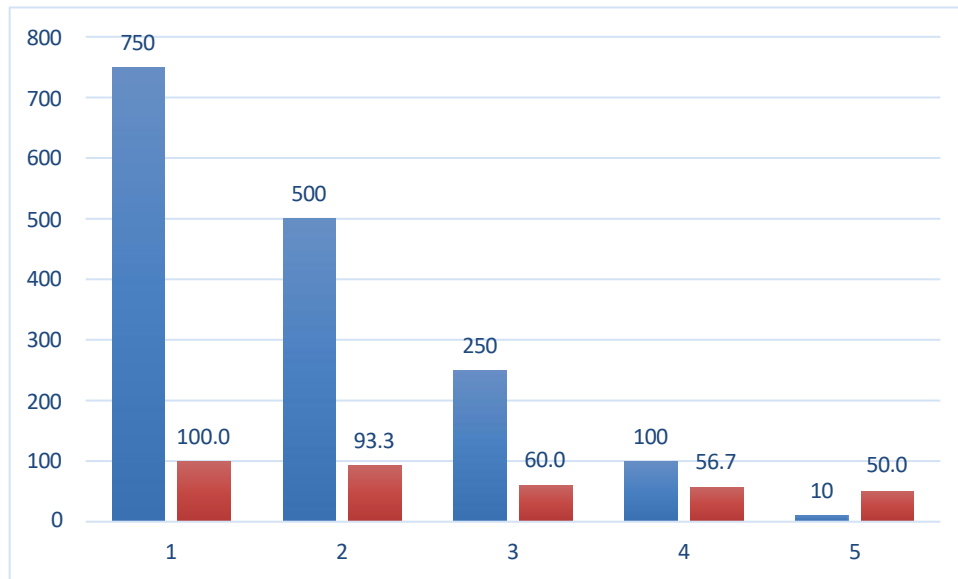
Kategori	LC ₅₀ PPM
Sangat toksik	< 30
Toksik	30 – 1000
Tidak toksik	>1000

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di laboratorium Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Pelamonia Makassar tentang Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L. *Folium*) Dari Kabupaten Wajo Terhadap Larva (*Artemia Salina* L.) Dengan Metode BSLT, maka diperoleh hasil sebagai berikut:

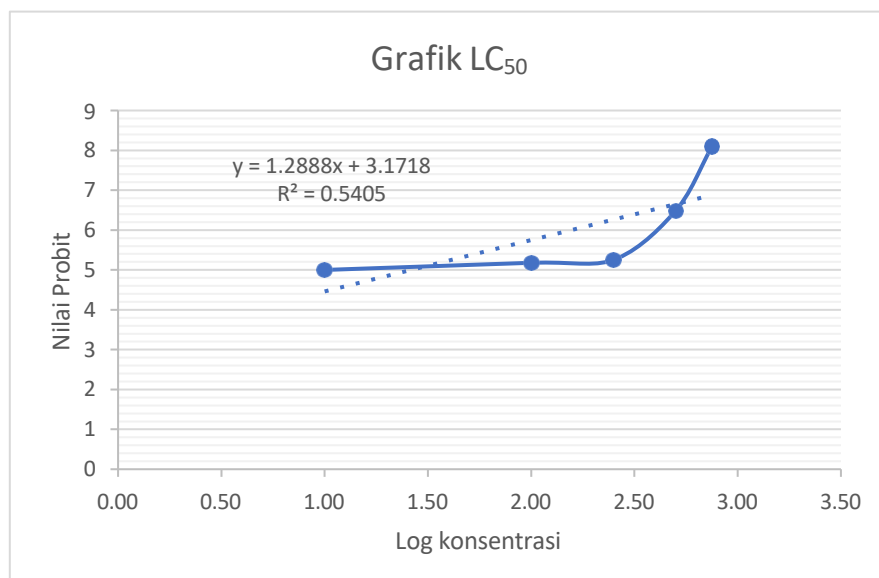
Tabel 3 Hasil uji toksisitas ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*)

Konsentrasi (ppm)	log kons	larva total (n)	Replikasi			rata-rata	% mortalitas	nilai probit
			1	2	3			
750	2.88	10	10	10	10	10.0	100.0	8.09
500	2.70	10	10	8	10	9.3	93.3	6.48
250	2.40	10	5	7	6	6.0	60.0	5.25
100	2.00	10	5	6	6	5.7	56.7	5.18
10	1.00	10	4	7	4	5.0	50.0	5
LC ₅₀ = 26,3 ppm (sangat toksik)								



Gambar 1 Grafik Persentase Kematian Larva

Dari gambar 1 dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi (ppm) ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi pula persentase kematian pada larva.



Gambar 2 Grafik persamaan regresi linier ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*)

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan pengujian toksisitas yang bertujuan untuk mengetahui nilai LC₅₀ pada ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*) terhadap larva (*Artemia salina* L.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini dipilih karena termasuk metode yang sering digunakan sebagai uji pendahuluan dalam penelusuran senyawa baru yang bersifat antikanker. Hasil dari metode ini telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas sitotoksik dari senyawa-senyawa antikanker (17).

Artemia salina Leach digunakan sebagai hewan uji karena hewan ini merupakan bioassay pertama di alam yang mampu mendeteksi ketoksikitasan suatu bahan alam. *Artemia salina* Leach merupakan hewan uji standart yang digunakan pada uji toksisitas metode BSLT (18). LC₅₀ (*Lethal Concentration 50*) adalah ukuran yang digunakan dalam toksikologi untuk menunjukkan konsentrasi suatu zat yang dapat menyebabkan kematian pada 50% individu dari spesies yang diuji dalam periode waktu tertentu. LC₅₀ sering digunakan untuk menilai tingkat bahaya suatu bahan kimia terhadap organisme dan untuk menetapkan batas paparan yang aman. Nilai LC₅₀ yang lebih rendah menunjukkan

toksisitas yang lebih tinggi (7).

Simplisia sebanyak 200 gram dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi lalu dilakukan penguapan dengan menggunakan rotary evaporator dan waterbath, setelah itu dihasilkan ekstrak kental sebanyak 15,65 gram. Ekstrak tersebut di lakukan pengujian kepada larva (*Artemia salina* L.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). dengan ditimbang sebanyak 0,1 gram ekstrak kental lalu dilarutkan kedalam etanol 96% sebanyak 100 mL maka dihasilkan larutan induk 1000 ppm.

Dapat dilihat pada tabel 3 dilakukan pengujian dengan beberapa konsentrasi yaitu 750 ppm dengan larva yang mati pada replikasi 1, 2, dan 3 masing – masing sejumlah 10 larva dengan persentase kematian sebesar 100%. Konsentrasi 500 ppm dengan larva yang mati pada replikasi 1 sejumlah 10, replikasi 2 sejumlah 8, dan replikasi 3 sejumlah 10 larva dengan persentase kematian sebesar 93,3%. Konsentrasi 250 ppm larva yang mati pada replikasi 1 sejumlah 5, replikasi 2 sejumlah 7, replikasi 3 sejumlah 6 dengan persentase kematian sebesar 60%. Konsentrasi 100 ppm larva yang mati pada replikasi 1 sejumlah 5, replikasi 2 sejumlah 6, replikasi 3 sejumlah 6 dengan persentase kematian sebesar 56,7%. Konsentrasi 10 ppm larva yang mati pada replikasi 1 sejumlah 4, replikasi 2 sejumlah 7, replikasi 3 sejumlah 4 dengan persentase kematian sebesar 50%, dan untuk kontrol negatif pada replikasi 1, 2, dan 3 tidak ada satupun larva yang mati. Hasil pengujian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula persentase kematian larva.

Adapun hasil dari perhitungan nilai LC_{50} diketahui bahwa ekstrak etanol Daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*) untuk membunuh 50% dari total larva (*Artemia salina* L.) terletak pada konsentrasi 26,3 ppm dan untuk hasil dari pengujian kontrol negatif tidak ada larva udang yang mati hal tersebut dapat diartikan bahwa kematian larva hanya terjadi akibat penambahan ekstrak. Maka dapat dikatakan bahwa ekstrak tersebut memiliki efek yang sangat toksik dan diduga berpotensi sebagai antikanker. Hasil tersebut sesuai dengan tabel 3 yang menyatakan bahwa senyawa dengan nilai $LC_{50} < 30$ ppm termasuk kategori yang sangat toksik, senyawa dengan nilai LC_{50} 30 – 1000 ppm termasuk kategori toksik, dan senyawa dengan nilai $LC_{50} > 1000$ ppm termasuk kategori tidak toksik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan dan pengolahan data dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 96% Daun sirih hijau (*Piper betle* L. *folium*) memberikan efek sangat toksik terhadap larva dengan nilai LC_{50} 26,3 ppm dan diduga dapat berpotensi sebagai antikanker.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk melakukan uji toksisitas lebih dalam lagi seperti menguji fraksi dari daun sirih hijau yang dilanjutkan dengan pengujian toksisitas akut menggunakan daun sirih hijau terhadap hewan tingkat tinggi seperti mencit, tikus, kelinci sebagai hewan uji.

DAFTAR PUSTAKA

1. Siagian HS, Elnovreny JM. (2022). Analisis Pengetahuan Mahasiswa Tentang Logo Pada Kemasan Obat Golongan Tradisional Di Universitas Imelda Medan. 5(2):57–64.
2. Nerdy N, Lestari P, Sinaga JP, Ginting S, Zebua NF, Mierza V, et al. (2021). *Brine shrimp (Artemia salina Leach.) lethality test of ethanolic extract from green betel (Piper betle linn.) and red betel (piper crocatum ruiz and pav.) through the soxhletation method for cytotoxicity test. Open Access Maced J Med Sci.*
3. Kalalinggi SY, Soekamto NH, Firdaus F. (2023). *Functional Group Identification and Toxicity of Piper crocatum Red Betel Acetone Extract against Artemia salina by Brine Shrimp Lethality Test Method. IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis).* (2):133–43.
4. Tanan ACM, Budiarto F, Bodhi W, Kepel BJ. (2022). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Buah Sirih (*Piper betle* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). eBiomedik. (1):14–9.
5. Sadiyah HH, Cahyadi AI, Windria S. (2022). Kajian Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) Sebagai Antibakteri. Jurnal Sain Veteriner. 40(2):128.
6. Alfathany LI. (2021). Ekstrak Etanol Daun Sirih *Piper betle* Sebagai Antikanker. JHTM Journal of Holistic and Traditional Medicine. 06(02).
7. Aprilyanie I, Handayani V, Syarif RA. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC .) Dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Makassar Natural Product Journal,. 1(1):1–9.

8. Biswas P, Anand U, Chatterjee S, Nishi S, Mishra T, Masih H, et al. (2022). *Betelvine (Piper betle L.): A comprehensive insight into its ethnopharmacology , phytochemistry , and pharmacological , biomedical and therapeutic attributes. (March):3083–119.*
9. Melati FL. (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Sediaan Salep Ekstrak Etanol 96% Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Makassar.
10. Saragih DS, Ridwanto R, Daulay AS, Miswanda D, Nasution HM. (2022). *Toxicity Test of Windu Shrimp (Penaeus monodon) Skin Chitosan With Brine Shrimp Lethality Test Method. Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST).* 5(2):88.
11. Nurvianthi RY, Adhitama A. (2022). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar dan Biji Cempedak (*Artocarpus champeden Spreng*) Asal Luwu Utara Terhadap Larva Udang (*Artemia salina Leach*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). *Jurnal Kesehatan Luwu Raya.* 09(01):41–54.
12. Fadli, Suhaimi, Idris M. (2019). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum (Wight) Walp.*) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Medical Sains.* 4(1):38.
13. Rachutami I. (2021). Uji AKtivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Jinten (*Plectranthus Amboinicus*) Terhadap *Artemia salina Leach* Dengan Metode BST (*Brine Shrimp Lethality Test*).
14. Hamidi MR, Jovanova B, Panovska TK. (2014). *Toxicological Evaluation Of The Plant Products Using Brine Shrimp (Artemia Salina L.) Model. Macedonian pharmaceutical bulletin;* 13.
15. Ningsih NNS, Tutik T, Amalia P. (2024). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Dan Etil Asetat Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan.* 10(12):3640–8.
16. Andini A, Prayekti E, Triasmoro F, Kamaliyah IN. (2021). Pengaruh Penggunaan Jenis Pelarut dalam Uji Sitotoksistas Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada Wound Dressing Kolagen-Kitosan. *al-Kimiya.* 8(1):15–20.
17. Surya Alfin. (2018). Toksisitas Eksrtak Metanol Kulit Jengkol (*Pithecellobium Jiringa*) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* Terhadap Larva Udang (*Artemia Salina*). *Jurnal Rekayasa Sistem Industri.* 3(2):149–53.
18. Putri RB, Nugrahaningsih W, Dewi NK. (2021). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Cassava Terhadap Larva *Artemia salina Leach* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences.* 44(2):86–91.