



SURAT TUGAS

No : E.6/021-07/22.01/TGS/XI/2018

1.	Pejabat yang memberi tugas	:	Kepala LPPM Universitas Muhammadiyah Sidoarjo
2.	Nama yang diberi tugas	:	Ketua: Jamilatur Rohmah, S.Si., M.Si Anggota 1: Fitria Eka Wulandari, S.Si., M.Pd. Anggota 2: Chylen Setiyo Rini, S.Si., M.Si
3.	Jabatan	:	Dosen Universitas Muhammadiyah Sidoarjo
4.	Maksud Tugas	:	Melaksanakan Penelitian Hibah Institusi TA 2018 dengan Judul "Aktivitas Sitotoksik Dan Tabir Surya Ekstrak Selada Merah (Lactuca Sativa Var. Crispa)".
5.	Waktu Pelaksanaan	:	Desember 2018 – Agustus 2019
6.	Keterangan lain-lain	:	Harap yang bersangkutan menjalankan tugas dengan penuh tanggung jawab, dan selesai melaksanakan tugas memberikan laporan secara tertulis.

Sidoarjo, 28 November 2018

Kepala LPPM,

Dr. Nyong ETIS, M.Fil.I.

UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK SELADA MERAH (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) PADA BERBAGAI PELARUT EKSTRAKSI DENGAN METODE BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Jamilatur Rohmah^{1*}, Chylen Setiyo Rini¹, Fitria Eka Wulandari²

¹Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

²Pendidikan IPA, Fakultas Psikologi dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo

*email: jamilaturrohmah@umsida.ac.id

Received 01 May 2019

Accepted 28 June 2019

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas sitotoksik dengan nilai LC_{50} dari ekstrak selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) pada berbagai pelarut. Sampel selada merah yang digunakan didapatkan dari desa Turirejo kecamatan Lawang-Malang. Simplisia selada merah di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan variasi pelarut yaitu pelarut etanol, metanol, etil asetat, dan n-heksana selama 24 jam. Hasil maserasi dipekatkan dengan alat rotary vacuum evaporator. Kemudian dilakukan uji skrining fitokimia serta KLT untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam sampel. Pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak etanol selada merah mengandung flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid. Sedangkan ekstrak metanol selada merah mengandung alkaloid, saponin, dan tanin. Pada ekstrak etil asetat selada merah mengandung alkaloid, saponin, steroid, dan tanin. Dan pada ekstrak n-heksana selada merah mengandung alkaloid, steroid, triterpenoid, dan tanin. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak n-heksana memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap *Artemia salina* Leach. dibandingkan dengan ekstrak etanol, metanol, dan etil asetat. Nilai LC_{50} ekstrak etanol, metanol, etil asetat, dan n-heksana secara berturut-turut adalah 322,288 ppm; 207,827 ppm; 1468,261 ppm; dan 170,115 ppm.

Kata kunci: Selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*), sitotoksik, *Artemia salina* Leach, BSLT.

Abstract

This study aims to determine the secondary metabolites content and cytotoxic activity with LC_{50} values from red lettuce extracts (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) in various solvents. The red lettuce were obtained from Turirejo village, Lawang-Malang district. Red lettuce were extracted by maceration method using various solvents are ethanol, methanol, ethyl acetate, and n-hexane for 24 hours. The maceration results were concentrated with a rotary vacuum evaporator. Then a phytochemical screening tests and TLC were carried out to determine the secondary metabolites content in the sample. Cytotoxic activity test were carried out by the BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method. The phytochemical test results shows that the ethanol extract of red lettuce contained flavonoids, tannins, saponins, triterpenoids, steroids and alkaloids. While the methanol extract of red lettuce contains alkaloids, saponins, and tannins. The red lettuce ethyl acetate extract contains alkaloids, saponins, steroids, and tannins. And the n-hexane extract of red lettuce contains alkaloids, steroids, triterpenoids,

and tannins. The results of the cytotoxic activity of methanol extract had the highest bioactivity against *Artemia salina* Leach. compared to ethanol, ethyl acetate and n-hexane extract. LC_{50} values of ethanol, methanol, ethyl acetate, and n-hexane extract were 322,288 ppm; 68,632 ppm; 1934,287 ppm; and 170.115 ppm respectively.

Keywords: *Red lettuce (Lactuca sativa var. Crispa)*, cytotoxic, *Artemia salina* Leach, BSLT.

Pendahuluan

Semakin majunya pengetahuan dan teknologi menuntun manusia untuk berkembang lebih baik lagi dari segi kesehatan terutama dalam penelitian untuk membuat obat dari suatu tumbuhan (Rahmawati, 2016). Salah satu tumbuhan yang bisa digunakan untuk obat yaitu selada merah (*Lactuca sativa var. Crispa*). Manfaat selada merah sebagai obat-obatan diantaranya dapat mengobati sakit kepala, demam, radang kulit, muntaber, demam, dan lainnya (Haryanto, dkk., 1995).

Tanaman selada merah (*Lactuca sativa var. Crispa*) sering dijadikan oleh masyarakat Indonesia sebagai lalapan dan lebih sering disajikan bersama burger, sandwich, dan juga salad. Seperti tanaman lainnya, selada merah (*Lactuca sativa var. Crispa*) kaya akan serat dan nutrisi yang bermanfaat bagi tubuh dan juga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder, diantaranya: flavonoid, saponin, tanin, fenolik, steroid, triterpenoid, dan alkaloid (Abidah, 2018; Faudhan, 2018). Senyawa flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya apoptosis. Apoptosis adalah kematian sel terprogram dan berperan penting dalam penghambat kanker (Pebriana, dkk., 2008).

Hasil penelitian Abidah (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol selada merah memiliki aktivitas antioksidan (IC_{50}) sebesar 4,7 ppm (sangat kuat). Sedangkan pada penelitian Faudhan (2018) ekstrak n-heksana selada merah memiliki aktivitas antioksidan (IC_{50}) sebesar 52,27 ppm yang tergolong dalam kategori kuat. Tingginya nilai IC_{50} ini menunjukkan bahwa tanaman selada merah selain dapat

berpotensi sebagai antioksidan juga dapat berpotensi sebagai antikanker.

Sejak lama penyakit kanker menjadi momok bagi banyak orang (Sudewo, 2004). Penyakit kanker masih menjadi masalah kesehatan dunia baik di negara berkembang maupun negara maju. Lebih dari 30% dari kematian diakibatkan oleh kanker. Dalam laporan terbaru yang dirilis oleh *International Agency for Cancer, Organisasi Kesehatan Dunia (WHO)* mengestimasi terdapat 18,1 juta kasus kanker baru dan 9,6 juta kematian yang terjadi pada tahun ini. Sebesar dua pertiga dari jumlah tersebut terjadi di negara berkembang (Juniman, 2018). Sedangkan secara nasional prevalensi penyakit kanker pada penduduk semua umur di Indonesia tahun 2013 sebesar 1,4% atau diperkirakan sekitar 347.792 orang meningkat menjadi 1,8% di tahun 2018 (Kemenkes RI, 2018).

Dewasa ini banyak dikembangkan obat-obatan antikanker baik yang berasal dari bahan kimia maupun yang berasal dari bahan alam yang dikenal sebagai bahan obat tradisional. Antikanker diharapkan mempunyai toksisitas selektif artinya dapat menghancurkan sel kanker tanpa merusak jaringan normal (Nafrialdi dan Ganiswara, 2005). Sampai sekarang ini belum banyak obat yang memenuhi kriteria tersebut sehingga perlu dikembangkan obat baru yang mempunyai efek terapi yang baik (Katzung, 2002). Obat antikanker yang telah ada umumnya selain memiliki khasiat sebagai antikanker obat tersebut juga bersifat merusak sel-sel yang tumbuh normal (Anonim, 2000). Selain itu pengobatan kanker dengan

obat-obatan kemoterapi hanya efektif untuk beberapa periode waktu saja (Meiyanto, 2003). Keadaan ini mendorong dilakukannya berbagai penelitian untuk menemukan antikanker yang diharapkan memiliki toksisitas selektif yaitu menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal (Ganiswara dan Nafrialdi, 2005).

Senyawa yang diduga memiliki aktivitas antikanker, harus diujikan terlebih dahulu pada hewan coba. Penelitian ini menerapkan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang pertama kali dikenalkan oleh Michael dkk pada tahun 1956. Metode pengujian BSLT ini didasarkan pada bahan senyawa aktif dari tumbuhan yang bersifat toksik dan mampu membunuh larva udang *Artemia salina* (sebagai hewan uji). Hasil uji toksisitas dengan metode ini terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa antikanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat. Sifat sitotoksik dapat diketahui berdasarkan jumlah kematian larva pada konsentrasi tertentu (Meyer, dkk., 1982; Sukardiman, 2004).

Tanaman selada merah telah dibudidayakan di Turirejo, Kecamatan Lawang-Malang. Tanaman tersebut belum dilakukan uji aktivitas sitotoksitasnya, sehingga pada penelitian ini akan dilakukan pengujian bioaktivitasnya dengan uji sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* (metode BSLT).

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu nampan, ayakan, penggiling, *rotary vacuum evaporator* (Buchi), almari pendingin, bejana kromatografi, plat KLT SIL G/UV₂₅₄, pipa kapiler, penggaris, lampu UV 254 dan 366 nm, neraca analitik, botol vial, lampu, aerator, mikropipet, bluetip, dan alat-alat gelas.

Bahan-bahan yang digunakan dalam

penelitian ini antara lain, selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) yang diambil dari desa Turirejo kecamatan Lawang-Malang. Bahan-bahan lain terdiri dari bahan kimia yaitu etanol (teknis), etil asetat (teknis), metanol (teknis), n-heksana (teknis), DMSO, etil asetat (p.a), etanol (p.a), air laut, telur *Artemia salina* L., besi (III) klorida, asam klorida, pereaksi mayer, pereaksi wagner, pereaksi dragendorf, dan magnesium.

Prosedur

Pembuatan Simplisia

Sampel basah selada merah dilakukan proses penyortiran dengan memisahkan dari bahan pengotor. Dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat sampel basah. Kemudian selada merah dicuci dengan air bersih, selanjutnya diletakkan dalam rak berlubang agar air bekas cucian jatuh ke bawah sehingga pergantian sirkulasi udara berlangsung dengan baik. Sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar. Pengeringan dilakukan dengan tujuan mengetahui persen penguapan air dalam sampel.

Selanjutnya dilakukan sortir kering dengan memilah bagian sampel yang diinginkan dari bahan pengotor lain. Setelah dipilah, sampel ditimbang untuk mengetahui berat kering daun dan batang. Kemudian masing-masing sampel diserbukkan dan disaring menggunakan ayakan (Ngibad, 2013). Hasil ayakan dimasukkan dalam wadah bersih, tertutup rapat, terhindar dari sinar matahari dan sampel dapat digunakan untuk prosedur selanjutnya.^[1]

Ekstraksi Maserasi

Serbuk simplisia selada merah ditimbang sebanyak 50 gram dan dimaserasi dalam 300 mL pelarut metanol, etanol, etil asetat, dan n-heksana pada suhu ruang selama 24 jam dan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi disaring. Residu yang diperoleh

diremaserasi dan diulang sebanyak 5 kali maserasi. Selanjutnya ekstrak encer yang diperoleh dipisahkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu pemanasan di bawah 55 °C dan diperoleh ekstrak pekat. Kemudian dilakukan uji kualitatif fitokimia dan uji kuantitatif tanin dengan KLT serta uji aktivitas sitotoksik untuk masing-masing ekstrak.

Uji Kualitatif Fitokimia

Uji Kualitatif Fitokimia dilakukan dengan mengacu pada Kristanti, dkk. (2006):

a) Tanin (Pereaksi FeCl₃)

Ekstrak selada merah pada berbagai pelarut masing-masing sebanyak 1 ml dan dipanaskan selama beberapa menit. Kemudian ditambahkan FeCl₃ 1% beberapa tetes. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau ungu kehitaman menunjukkan adanya tanin.

b) Alkaloid

Masing-masing sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan kloroform dan NH₃. Lalu dipanaskan di atas penangas air. Ditambahkan 1 tetes H₂SO₄ pada masing-masing tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan pereaksi Mayer. Tabung kedua ditambahkan pereaksi wegner. Sedangkan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Dragendroff. Tabung pertama terbentuk endapan putih, tabung kedua terbentuk endapan jingga dan coklat di tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid (Farnsworth, 1966).

c) Flavonoid

Masing-masing sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan ke dalam 3 ml etanol 70% kemudian dikocok, dipanaskan dan dikocok kembali. Lalu disaring dan diambil filtratnya. Filtrat ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 gram dan 3 tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna merah bata pada sampel menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Prameswari, dkk., 2014).

d) Saponin

Masing-masing sebanyak 1 ml ekstrak ditambah 10 ml aquades dan dididihkan dalam penangas air. Kemudian campuran tersebut dikocok dan dibiarkan 15 menit. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil.

e) Steroid

Sampel 1 ml masing-masing ditambahkan 3 ml etanol 70% dan 2 ml H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH. Terbentuknya warna ungu kebiruan atau kehijauan menunjukkan adanya steroid dalam sampel.

f) Triterpenoid

(Uji Liebermann-Burchard)

Ekstrak maserasi sebanyak 1 ml masing-masing ditambahkan 2 ml kloroform dan 3 ml H₂SO₄ pekat. Reaksi positif adanya terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan.

g) Fenolik

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan NaCl 1% dan gelatin 10%. Jika terbentuk endapan putih maka positif mengandung fenolik.

Uji KLT

Hasil ekstraksi maserasi ditotolkan pada plat KLT GF254 dengan ukuran tinggi 10 cm dan lebar 3 cm menggunakan pipa kapiler 1 cm dari tepi bawah plat KLT, kemudian dibiarkan kering. Plat KLT selanjutnya ditempatkan pada bejana kromatografi yang berisi eluen etanol : etil asetat (4:1). Setelah dielus sampai garis batas plat KLT dikeluarkan dari bejana dan dikeringkan, bercak diamati dengan sinar ultraviolet pada panjang gelombang 366 nm (Sa'adah, 2010). Jarak bercak dari titik penotolan yang diperkirakan senyawa tanin diukur dan dicatat sehingga dihasilkan harga R_f bercak.

Pengujian Toksisitas dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)

Aktivitas sitotoksik dilakukan menggunakan metode BSLT menurut Ningdyah, dkk (2015) dengan sedikit modifikasi:

a) Penetasan Larva Artemia^[15]

Larva artemia ditetaskan dalam sebuah wadah yang dibagi menjadi 2 bagian. Kemudian dimasukkan 1 L air laut yang telah disaring dengan kertas saring. Salah satu sisi wadah ditutup dengan alumunium foil dan ditambahkan telur udang Artemia salina L. ± 50 mg yang dilengkapi dengan aerator. Sisi lainnya dibiarkan terbuka dan diletakkan di bawah lampu selama 48 jam. Larva yang menembus daerah terang setelah berumur 48 jam siap digunakan untuk uji BSLT.

b) Persiapan Larutan Sampel

Larutan induk dibuat dengan melarutkan 1 g sampel dalam 1000 mL air laut. Sampel yang sukar larut ditambahkan dengan dimetil sulfoksida (DMSO) 0,1% atau Tween 80 sebanyak 5 – 10 mL. Kemudian dipipet 1, 2, 4, 6, dan 8 mL larutan induk, sehingga diperoleh konsentrasi 100, 200, 400, 600, dan 800 ppm. Masing – masing konsentrasi dan kontrol dibuat 4 kali pengulangan.

c) Prosedur Uji Senyawa Bioaktif dengan Metode BSLT

Dibuat pengenceran larutan uji konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, dan 800 ppm dari larutan induk 1000 ppm. Sebanyak 10 larva udang dalam 10 µL air laut dimasukkan ke dalam vial uji. Kemudian ditambahkan air laut dalam masing-masing vial uji, untuk setiap konsentrasi dilakukan 4 kali pengulangan. Dibuat blanko dengan perlakuan yang sama tanpa penambahan larutan sampel pada vial uji. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva yang masih hidup dan yang sudah mati, kemudian dihitung %

mortalitasnya menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{akumulasi mati}}{\text{akumulasi mati} + \text{akumulasi hidup}} \times 100$$

Hasil dan Pembahasan

Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) dilakukan melalui proses sortasi awal, pencucian sampel daun dan batang, pengeringan dan penyerbukan sampel. Pada proses ini didapatkan hasil berat basah, berat kering dan berat serbuk sampel selada merah yang selanjutnya disebut sebagai simplisia yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil berat sampel selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*)

Parameter	Berat (gram)
Berat basah	6500
Berat kering	2200
Berat serbuk	200

Berdasarkan pada Tabel 1 didapatkan hasil berat sampel basah selada merah sebesar 6500 gram dan berat sampel kering 2200 gram. Pada sampel kering selada merah mengalami penyusutan sebesar 33,85%. Penyusutan terjadi karena adanya proses penguapan kadar air selama proses pengeringan. Proses penguapan kadar air berfungsi untuk menjaga kualitas ekstrak agar terhindar dari pertumbuhan jamur/mikroba sehingga simplisia tidak mudah busuk (Mabruroh, dkk., 2015).

Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi maserasi dilakukan untuk menarik keluar zat-zat atau senyawa aktif yang terkandung dalam sampel. Proses maserasi dilakukan tanpa pemanasan guna mencegah terjadinya kerusakan atau kehilangan senyawa aktif yang terkandung dalam sampel. Prinsip dari ekstraksi maserasi yaitu memisahkan suatu senyawa

yang terkandung dalam sampel menggunakan pelarut tertentu (Soebagio, 2003).

Pelarut yang digunakan pada proses maserasi ekstrak selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) yaitu menggunakan pelarut metanol, etanol, etil asetat, dan n-heksana dengan perbandingan pelarut dan sampel yaitu 1:6. Serbuk selada merah masing-masing sebanyak 50 gram dimaserasi dalam 300 ml pelarut. Tujuan pemilihan menggunakan variasi pelarut yaitu untuk mengetahui tingkat sitotoksitas pada masing-masing ekstrak yang sesuai dengan kelarutannya sehingga dapat digunakan sebagai rujukan untuk mengetahui potensi bioaktivitas tertinggi suatu senyawa, karena dimungkinkan pada pelarut yang berbeda potensi bioaktivitas dan senyawa aktif yang terkandung didalamnya berbeda pula. Penggunaan serbuk dalam proses maserasi bertujuan untuk mempermudah pelarut menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung senyawa aktif. Sehingga zat aktif yang terkandung dalam sampel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi atau tekanan di luar dan di dalam sel, sehingga larutan yang terpekat akan didesak ke luar. Maka dalam peristiwa tersebut larutan yang berada di dalam dan

di luar sel terjadi keseimbangan konsentrasi larutan [15]. Struktur dari senyawa tanin tersusun atas atom-atom yang berbeda, tanin memiliki gugus hidroksil lebih dari satu. Tanin bersifat polar sehingga harus dilarutkan dengan pelarut yang juga bersifat polar. Tanin dengan protein dapat membentuk kompleks, interaksi antara tanin dengan protein dapat diminimalkan dengan pemilihan pelarut aseton, sehingga senyawa tanin dapat terekstrak secara maksimal (Sa'adah, dkk., 2010).

Proses maserasi dilakukan selama 24 jam disertai dengan pengadukan, residu yang diperoleh kemudian diremaserasi sebanyak 5 kali perendaman. Dilakukannya pengulangan sebanyak 5 kali bertujuan untuk mendapatkan hasil ekstrak lebih banyak dan mendapatkan senyawa tanin secara optimal. Kemudian tahap selanjutnya yaitu dilakukan proses penyaringan dari hasil maserasi. Filtrat yang diperoleh dari proses penyaringan dipisahkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 55°C. Proses pemekatan bertujuan untuk menguapkan pelarut dan mengurangi kadar air sehingga didapatkan hasil ekstrak yang pekat sebagai berikut:

Tabel 2. Perolehan ekstrak pekat selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*)

Parameter	Hasil Ekstrak Selada Merah pada Berbagai Pelarut			
	Metanol	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
Serbuk simplisia	50 gram	50 gram	50 gram	50 gram
Ekstrak pekat	6,1610gram	17,3000 gram	12,8073 gram	1,8812 gram
Rendemen	12,3220%	34,6000%	25,6146%	3,7625 %

Hasil esktraksi didapatkan prosentase rendemen ekstrak yang paling besar adalah pada ekstrak etanol. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa dalam selada merah cenderung larut pada pelarut etanol. Perbedaan nilai rendemen tersebut diduga disebabkan oleh sifat pelarut dalam melarutkan senyawa

metabolit sekunder yang berbeda. Hasil ekstrak pekat selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) yang didapatkan selanjutnya dilakukan pengujian fitokimia yang diperkuat dengan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan sitotoksik menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

Uji Kualitatif Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa aktif atau senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu bahan. Salah satu syarat uji fitokimia yaitu menggunakan pereaksi yang sesuai dengan golongan senyawa yang akan

diidentifikasi (Marjoni, 2016). Pengujian fitokimia pada suatu bahan meliputi tujuh parameter yaitu uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin. Hasil uji fitokimia ekstrak aseton daun dan batang turi putih dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 3. Hasil uji fitokimia ekstrak pekat selada merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*)

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil (terbentuknya)	Kesimpulan (+) / (-)			
			Metanol	Etanol	Etil Asetat	n-Heksana
Alkaloid	Mayer	Endapan jingga	-	+	+++	+
	Wagner	Endapan coklat	+++	+	+++	+
	Dragendorf	Endapan putih	+++	+	+++	-
Flavonoid	Mg + HCl pekat + etanol	Warna merah	-	+++	-	-
Saponin	-	Adanya busa stabil	+++	+	+++	-
Steroid	Libermann-Burchard	Ungu ke biru/hijau	-	++	+++	++
Triterpenoid	Kloroform+H ₂ SO ₄ pekat	Merah kecoklatan	-	++	-	++
Fenolik	NaCl 10% + Gelatin 1%	Endapan putih	-	++	-	-
Tanin	FeCl ₃ 1%	Ungu kehitaman	+	+	+	+

Keterangan: (+) rendah, (++) sedang, (+++) tinggi, (-) tidak ada.

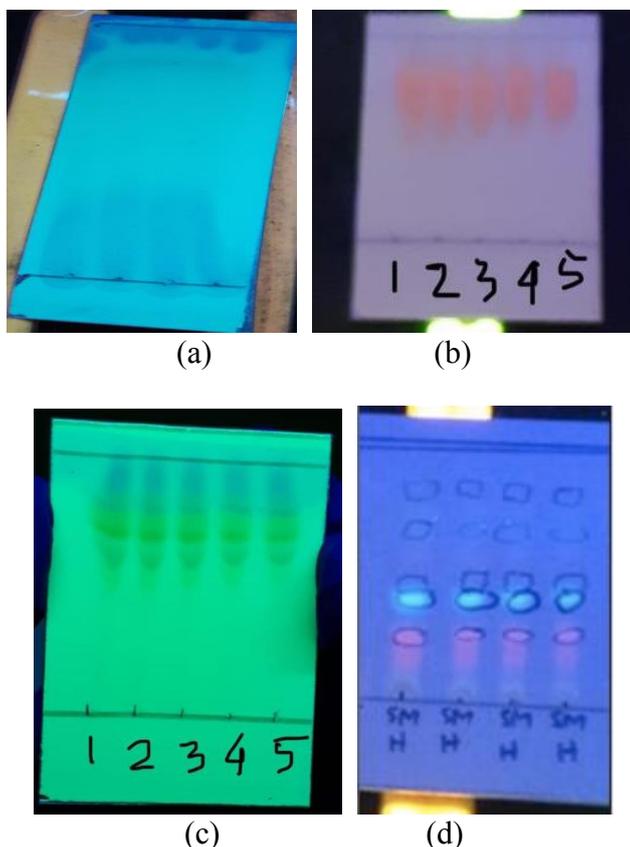
Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak aseton daun dan batang turi putih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, fenolik, dan tanin. Namun intensitas uji yang dihasilkan menunjukkan perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun dan batang turi putih. Hal ini disebabkan karena senyawa metabolit sekunder yang ada pada tumbuhan terdistribusi dengan kadar yang berbeda pada setiap organ. Senyawa yang sama ataupun kelompok senyawa yang sama dimungkinkan untuk disintesis atau ditimbun pada organ yang berbeda. Kadar senyawa metabolit sekunder yang berbeda akan mempengaruhi aktivitas antioksidannya (Del Bano, et al., 2003).

Uji KLT

Uji kromatografi lapis tipis merupakan uji yang dilakukan untuk memisahkan suatu senyawa berdasarkan perbedaan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak (Hayati, dkk., 2010). Fase gerak yang digunakan yaitu campuran etanol dan etil asetat dengan perbandingan 4,5:1,5. Uji fitokimia merupakan pembuktian kandungan golongan senyawa yang selanjutnya diperkuat dengan adanya identifikasi menggunakan KLT. Bercak noda yang dihasilkan kemudian diamati menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm (Gambar 1). Hasil uji KLT menunjukkan pada plat nampak terlihat berfluoresensi di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dengan warna biru keunguan untuk ekstrak etanol selada merah sedangkan pada ekstrak

metanol selada merah bercak noda berwarna oranye. Pada ekstrak etil asetat berwarna hijau kekuningan dan keunguan, dan pada ekstrak n-heksana berwarna pink dan biru. Perbedaan warna bercak noda yang dihasilkan antara ekstrak etanol,

metanol, etil asetat, dan n-heksana dikarenakan dalam satu tanaman dapat mengandung jenis senyawa yang bermacam-macam meskipun dalam satu golongan senyawa (Pokorni, *et al.*, 2001).



Gambar 1. Pengamatan bercak noda di bawah sinar UV 366 nm, (a) ekstrak etanol selada merah, (b) ekstrak metanol selada merah, (c) ekstrak etil asetat selada merah, dan (d) ekstrak n-heksana selada merah

Hasil uji KLT diperoleh 3 noda untuk ekstrak etanol selada merah. Pada noda pertama didapatkan nilai R_f sebesar 0,88 yang diduga adalah senyawa flavonoid. Hal ini didukung oleh Yohanes dkk., (2013) didapatkan nilai R_f sebesar 0,89 dan diduga senyawa flavonoid. Pada noda dua diduga mengandung senyawa tanin dengan nilai R_f sebesar 0,67. Hal ini didukung oleh Rohmaniyah (2016) mengasumsikan bahwa nilai R_f senyawa tanin yaitu 0,66. Sedangkan pada noda tiga diduga mengandung senyawa triterpenoid dengan nilai R_f sebesar 0,4 hal ini sama halnya dengan penelitian

Erawati (2012) yang mengasumsikan bahwa terdapat senyawa flavonoid dengan nilai R_f 0,45. Sehingga dari hasil uji kromatografi lapis tipis dalam ekstrak etanol selada merah dapat diduga mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid dan tanin.

Sedangkan untuk ekstrak metanol selada merah didapatkan 5 noda dengan nilai R_f untuk noda satu, dua, dan tiga diperoleh sebesar 0,81 yang diduga adalah senyawa tanin. Hal ini diperkuat dengan nilai R_f literatur yang menunjukkan bahwa nilai R_f tanin yaitu 0,81 (Mukholifah, 2014). Dan pada noda empat

dan lima yang diduga senyawa alkaloid atau saponin dengan nilai Rf sebesar 0,85. Mengacu pada penelitian Sinaga (2018) yang menyebutkan bahwa nilai Rf 0,85 menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah senyawa golongan alkaloid.

Pada ekstrak etil asetat diperoleh 6 noda dengan nilai Rf untuk noda pertama sebesar 0,63; noda kedua sebesar 0,66; noda ketiga sebesar 0,72; noda keempat sebesar 0,83; noda kelima sebesar 0,87; dan noda kelima sebesar 0,91. Dan diduga mengandung senyawa tanin, steroid, dan alkaloid.

Kemudian pada ekstrak n-heksana didapatkan 4 noda yakni dengan nilai Rf berurutan 0,27; 0,4; 0,67; 0,83 yang diduga senyawa steroid, triterpenoid, tanin dan juga flavonoid. Mengacu pada penelitian Erawati (2012) yang menyebutkan bahwa dengan nilai Rf yang berturut-turut 0,325; 0,45; 0,55; serta 0,95 merupakan positif adanya senyawa metabolit sekunder jenis triterpenoid. Sedangkan nilai Rf untuk senyawa steroid pada penelitian ini mengacu pada penelitian Ilyas, dkk., (2015) dengan hasil KLT dari 3 eluen dengan nilai Rf masing-masing 0,2; 0,6; dan 0,8 menunjukkan bahwa senyawa tersebut merupakan salah satu senyawa golongan steroid.

Penentuan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah

Uji sitotoksik merupakan suatu uji yang dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksik adalah memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Amalina 2008). Uji sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach atau *Brine-Shrimp Lethality Test* (BSLT) sering digunakan dalam mengawali penelitian pada bahan alam dan merupakan uji pendahuluan dalam upaya pencarian senyawa antikanker dengan

penentuan nilai LC_{50} setelah pemaparan ekstrak selama 24 jam (Meyer, dkk., 1982). Nilai LC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar harga LC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Ekstrak sampel dikatakan toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm (Meyer, dkk., 1982). Jika pada uji pendahuluan ini memperlihatkan hasil yang cukup baik, maka dapat dilakukan pengujian lebih lanjut. Metode BSLT ini merupakan salah satu cara yang sederhana, tepat, tidak diperlukan kondisi yang aseptis, dan murah untuk skrining toksisitas dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan laut larva udang *Artemia salina* Leach.

Penelitian diawali dengan membuat larutan induk 1000 ppm untuk masing-masing ekstrak. Pelarutan sampel dengan air laut menggunakan bantuan DMSO karena adanya perbedaan kepolaran yang mengakibatkan sampel tidak larut sempurna jika hanya menggunakan air laut. DMSO berfungsi sebagai surfaktan. Surfaktan merupakan senyawa yang memiliki sifat hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat membantu pelarutan sampel dan air laut dengan cara menurunkan tegangan permukaan. Kemudian dibuat larutan sampel dengan konsentrasi 100, 200, 400, 600, dan 800 ppm dari masing-masing larutan induk (tiap ekstrak).

Penetasan larva udang dilakukan selama 48 jam, fase yang digunakan adalah fase naupli instar II dan III. Hal ini disebabkan karena pada fase tersebut larva *Artemia salina* Leach berada pada fase yang paling aktif untuk pembelahan secara mitosis yang juga identik dengan sel kanker yang membelah secara mitosis (Ropiqa, 2009). *Artemia salina* Leach pada fase naupli instar II dan III memiliki struktur anatomi yang masih sangat sederhana, yaitu terdiri dari mulut, lapisan

kulit, antena, calon tracopoda, dan saluran pencernaan yang masih sederhana (Raineri, 2981). Setelah 48 jam, 10 ekor naupli kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing larutan uji. Setiap sampel

dilakukan 4 kali pengulangan. Naupli dibiarkan selama 24 jam lalu kemudian dihitung naupli yang mati pada semua larutan uji.

Tabel 4. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol, Metanol, Etil Asetat, dan n-Heksana Selada Merah

Ekstrak	Konsentras i ekstrak (ppm)	Jumlah Artemia salina L.	Jumlah Kematian Artemia salina L.				Prosentase Kematian (%)
			Replikasi				
			1	2	3	4	
Etanol	Kontrol	10	0	0	0	0	0
	100 ppm	10	0	0	0	0	0
	200 ppm	10	3	2	2	3	25
	400 ppm	10	6	10	7	6	72,5
	600 ppm	10	8	7	7	9	77,5
	800 ppm	10	9	10	9	8	90
	1000 ppm	10	10	10	10	10	100
Metanol	Kontrol	10	0	0	0	0	0
	100 ppm	10	0	0	1	0	2,5
	200 ppm	10	6	5	4	6	52,5
	400 ppm	10	9	8	10	9	90
	600 ppm	10	10	10	10	10	100
	800 ppm	10	10	10	10	10	100
	1000 ppm	10	10	10	10	10	100
Etil Asetat	Kontrol	10	0	0	0	0	0
	100 ppm	10	0	1	0	0	2,5
	200 ppm	10	3	2	2	2	22,5
	400 ppm	10	5	4	3	5	42,5
	600 ppm	10	4	1	3	2	25
	800 ppm	10	4	4	4	1	32,5
	1000 ppm	10	5	5	4	3	42,5
n-Heksana	Kontrol	10	0	0	0	0	0
	100 ppm	10	1	1	0	0	5
	200 ppm	10	6	6	7	10	72,5
	400 ppm	10	10	9	10	10	97,5
	600 ppm	10	10	10	10	10	100
	800 ppm	10	10	10	10	10	100
	1000 ppm	10	10	10	10	10	100

Berdasarkan tabel 4 di atas, jumlah prosentase rata-rata mortalitas larva *Artemia salina* L. mengalami kenaikan hingga 24 jam dimana merupakan puncak kematian larva serta seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak kematian larva juga meningkat. Kecepatan kematian larva antara ekstrak etanol,

metanol, etil asetat, dan n-heksana selada merah lebih cepat ekstrak n-heksana selada merah dengan konsentrasi 200 ppm yaitu pada satu jam pertama sudah ada kematian larva dibandingkan pada ekstrak yang lainnya. Pada kontrol tidak terjadi kematian. Hal ini menunjukkan bahwa kematian larva tidak dipengaruhi oleh air

laut tetapi oleh adanya ekstrak yang ditambahkan. Sehingga ekstrak yang memiliki sitotoksisitas yang paling efektif terhadap kematian larva adalah ekstrak n-heksana selada merah dibandingkan dengan ekstrak etanol, metanol, dan etil asetat selada merah. Hal ini terkait dengan kandungan fitokimia yang terdapat pada ekstrak n-heksana selada merah yang mampu menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang potensial sebagai sitotoksik dibandingkan dengan ekstrak lainnya.

Tingginya toksisitas dari ekstrak disebabkan karena di dalam ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder jenis alkaloid, tanin, steroid dan triterpenoid. Hal ini disebabkan karena cara kerja senyawa yang terdapat dalam sampel yaitu ekstrak dalam membunuh larva udang *Artemia salina* Leach bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, apabila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya akibatnya larva mati kelaparan (Novianti, 2012). Efek yang ditimbulkan terjadi secara cepat dalam waktu 24 jam, hingga menyebabkan kematian 50% *Artemia*

salina. Menurut Castritsi (1984), hasil pengamatan menggunakan mikroskop elektron menunjukkan terjadi kerusakan pada mikrovili *Artemia salina*. Kerusakan ini terjadi akibat pemaparan senyawa toksik potassium dichromate ke dalam tubuh *Artemia salina* pada naupli instar II dan III melalui mulut dan masuk ke saluran pencernaan *Artemia salina*. Hal ini menyebabkan uji BSLT ini sering digunakan sebagai penelitian pendahuluan dari aktivitas antikanker. Sehingga ekstrak etanol, metanol, etil asetat, dan n-heksana selada merah bersifat sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Kemudian dari data mortalitas yang diperoleh dilakukan penentuan nilai LC_{50} dari setiap larutan sampel dengan menggunakan program SPSS yaitu analisis Probit. Berdasarkan hasil yang diperoleh, sampel yang memiliki nilai LC_{50} dari yang terkecil hingga yang terbesar adalah ekstrak n-heksana metanol, etanol, dan etil asetat. Hal ini dimungkinkan karena senyawa yang terekstrak dalam pelarut tidak terlalu sitotoksik terhadap *Artemia salina*. Tabel 5 menunjukkan semua ekstrak memiliki sifat toksisitas. ekstrak n-heksana memiliki sifat toksisitas yang paling tinggi, hal ini dilihat dari nilai LC_{50} yang paling kecil dari yang lainnya.

Tabel 5. Analisis probit LC_{50}

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Konsentrasi Maksimum (ppm)	Konsentrasi Minimum (ppm)
Ekstrak etanol selada merah	322,288	402,197	237,335
Ekstrak metanol selada merah	207,827	242,414	168,437
Ekstrak etil asetat selada merah	1468,261	5191,909	341,656
Ekstrak n-heksana selada merah	170,115	132,216	198,893

Hasil analisa probit dari data yang diperoleh sebesar 322,288 ppm untuk ekstrak etanol, 207,827 ppm untuk ekstrak metanol, 1468,261 untuk ekstrak etil asetat, dan 170,115 ppm untuk ekstrak

n-heksana selada merah yang artinya larva akan mati sebesar 50% jika pada konsentrasi ekstrak selada merah sebesar 322,288 ppm untuk ekstrak etanol, 207,827 ppm untuk ekstrak metanol,

1468,261 untuk ekstrak etil asetat, dan 170,115 ppm untuk ekstrak n-heksana. Ketiga ekstrak yaitu ekstrak etanol, metanol, dan n-heksana selada merah dapat diketahui bahwa ketiga ekstrak bersifat sitotoksik terhadap *Artemia salina* karena memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (Meyer, dkk., 1982). Ekstrak yang memiliki nilai LC_{50} rendah menunjukkan bahwa golongan senyawa yang terkandung didalamnya bersifat lebih toksik terhadap *Artemia salina* L.

Sedangkan, pada ekstrak etil asetat menunjukkan nilai LC_{50} yang paling tinggi diantara yang lainnya. Hasil tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan konsentrasi uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu sebesar 1.000 ppm yang hanya membunuh larva *Artemia salina* L. sebanyak 42,5%.

Toksisitas metabolit sekunder tanaman berkaitan dengan kemampuan pertahanan diri terhadap predator. Mekanisme pertahanan diri tersebut dengan cara melindungi organ target maupun dengan menghambat pembelahan sel yang terkena kuman patogen (Cutler dan Cutler, 2000). Menurut Kusuma, dkk (2016) ekstrak kental etanol batang karamunting positif mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid. Ekstrak etanol batang karamuntingnya memiliki nilai $LC_{50} > 500$ ppm.

Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh tumbuhan *Rhodomirtus tomentosa* yang diambil di kabupaten Sukamara, menunjukkan adanya perbedaan hasil yang sangat signifikan ini dipengaruhi oleh lingkungan tumbuhnya. Intensitas cahaya matahari, unsur hara dan umur

suatu tumbuhan akan mempengaruhi kandungan kimia dari suatu tumbuhan meskipun tumbuhan tersebut dari family dan spesies yang sama. Ekstrak batang tumbuhan karamunting yang diambil di Kabupaten Sukamara memiliki sifat toksisitas yang sangat kuat sedangkan ekstrak batang Karamunting yang digunakan oleh Kusuma, dkk (2016) memiliki sifat toksisitas yang lemah.

Simpulan

Kandungan metabolit sekunder berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak etanol selada merah mengandung flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid. Sedangkan ekstrak metanol selada merah mengandung alkaloid, saponin, dan tanin. Pada ekstrak etil asetat selada merah mengandung alkaloid, saponin, steroid, dan tanin. Dan pada ekstrak n-heksana selada merah mengandung alkaloid, steroid, triterpenoid, dan tanin. Hasil uji aktivitas sitotoksik ekstrak n-heksana memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap *Artemia salina* Leach. dibandingkan dengan ekstrak yang lainnya dengan nilai LC_{50} ekstrak etanol, metanol, etil asetat, dan n-heksana secara berturut-turut adalah 322,288 ppm; 207,827 ppm; 1468,261 ppm; dan 170,115 ppm.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Universitas Muhammadiyah Sidoarjo yang telah mendanai penelitian ini serta kepada pihak-pihak yang membantu pelaksanaan penelitian

Daftar Pustaka

- Abidah, L. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Selada Merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.
- Amalina, N., (2008). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Merica Hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap Sel HeLa, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Anonim, (2000), Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, 1, 3, Direktorat. Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Castritsi, C., Loannidou, J.M., Katsorchis, M., and Kiortsis. T. (1984). Action d'un dispersant du petrole sur l'epithlium intestinal de deux souches d'Artemia, 1984. *Tr. J. of Zoology* 22 (1998) 259-266.
- Cutler, S. dan Cutler, H., (2000). Biologically Active Natural Product. Pharmaceuticals, CRC Press LLC, Boca Raton, USA: 1-13.
- Del Bano, M.J., Lorente, J., Castillo, J., Garcia, O. B., Del Rio, J. A., Ortuno, A., Quirin, K. W., and Gerard, D. Phenolic Diterpenes, Flavones, and Rosmarinic Acid Distribution during the Development of Leaves, Flowers, Stems, and Roots of *Rosmarinus officinalis*, Antioxidant Activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 51 (15) : 4247-4253, 2003.
- Erawati. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garciniadaedalanthera* Pierre dengan Metode DPPH (1,1-difenil pikrilhidrazil) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Dari Fraksi Paling Aktif. *Skripsi*. Fakultas MIPA. Universitas Indonesia. Depok.
- Faudhan, N. (2018). Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana Selada Merah (*Lactuca sativa* var. *Crispa*) dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Skripsi*. Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.
- Haryanto, E., Suhartini, T., Rahayu, E. 1995. *Sawi dan Selada*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hayati, E. K., Fasyah, A. G., dan Sa'adah, L. (2010). Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Alverrhoa Bilimbi* L.), *Jurnal Kimia*, 4 (2): 193-200.
- Ilyas, A., Iin, N., dan Irmayanti. (2015). Senyawa Golongan Steroid dari Ekstrak N-Heksana Kulit Batang Kayu Bitti (*Vitex Cofassus*) dan Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach.
- Juniman, P.T. (2018). *WHO: Kanker Membunuh Hampir 10 Juta Orang di Dunia Tahun Ini*. CNN Indonesia edisi Kamis 13 September 2018. <https://m.cnnindonesia.com/gaya-hidup/20180913133914-255-329910/who-kanker-membunuh-hampir-10-juta-orang-di-dunia-tahun-ini>.
- Katzung, B.G., (2002), Farmakologi Dasar dan Klinik, Edisi III, 693-694, Penerbit. Buku Kedokteran EGC.
- Kemenkes RI. (2018). *Riset Kesehatan Dasar*; RISKESDAS. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Kristanti, A.N., Nanik, S.S., Mulyadi, T., dan Bambang, K. (2006). *Buku*

- Ajar *Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kusuma, I. W, Ainiyati, N, Suwinarti, W. (2015). Search for Biological Activities from an Invasive Shrub Species Rose Myrtle (*Rhodomyrtus tomentosa*). *Jurnal Nusantara Bioscience*. 8(1).
- Mabruroh, A.I., (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumpuk Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dan Identifikasinya, *Skripsi*, Malang: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Marjoni, R. (2016). *Dasar-Dasar Fitokimia*, Jakarta: Trans Info Media, Hlm 1-38.
- Meiyanto, E. (2003). Efek Antiproliferatif Ekstrak Etanol Daun Dan Kulit Batang Tanaman Cangkring (*Erythrina fusca* Lour.) Terhadap Sel HeLa. *Majalah Farmasi Indonesia*. 14(3) :124 – 131.
- Meyer *et al.* (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45:31-34.
- Mukholifah. (2014). Identifikasi Tanin dan Penentuan Eluen Terbaik dari Ekstrak Etanol 70% Daun Pepaya (*Carica papaya*) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis, *Jurnal Biologi*, Malang, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nafrialdi dan Ganiswara, (2005). *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV, Fakultas Kedokteran UI, Jakarta.
- Ngibad, K. (2013). Efektivitas Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus*) dan Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) sebagai Antimalaria Secara *In Vivo*. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)* 2019; 5 (1): 12 – 19.
- Ningdyah, A. W, Alimuddin, A.H, Jayuska, A. (2015). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea marcocarpa*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Vol.4(1).
- Novianti, R. K., Boedi, S. R., dan Cahyono, Y. (2012). Pengaruh pengkayaan *Artemia* spp. dengan kombinasi minyak kedelai dan minyak ikan salmon terhadap pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup larva kepiting Bakau (*Scylla paramamosain*). *Journal of Marine and Coastal Science*, 1 (2): 125-139.
- Pebriana, R.B., Bantari, W.K.W., Widayanti, E., Wijayanti, N.L.S., Wijayanti, T.R., Riyanto, S., Meiyanto, E., (2008). Pengaruh Ekstrak Metalonik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara. *Pharmacon*. 9(1):2.
- Pokorni, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. (2001). *Food Practical Applications*, New York: CRC Press.
- Rahmawati, U., Suryani, E., dan Mukhlason, A. (2016). *Pengembangan Repository Pengetahuan Berbasis Ontologi (Ontology-Driven Knowledge Repository) untuk Tanaman Obat Indonesia*. *Jurnal Teknik Pomits* 1(1): 1-6
- Rohmaniyah, M. (2016). Uji Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan Fraksi Aktif Rumpuk Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) menggunakan metode DPPH serta identifikasi senyawa aktifnya. *Skripsi*. Jurusan Kimia. Fakultas Sains dan Teknologi.

- Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Ropiqa, M. (2009). Uji Ketoksikan (LC₅₀) Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal*. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Tanjungpura.
- Sa'adah, L., Hayati, E.K., dan Fasyah, G. (2010). Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Blimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*. Vol. 4, No.2: 192-200.
- Sinaga, S.F. (2018). Aktivitas antioksidan Senyawa Alkaloid dari Kulit Batang Attarasa (*Litsea cubeba* Lour) dengan Metode DPPH dan ABTS. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara.
- Soebagio. (2003). *Kimia Analitik II*, Malang: UM Press.
- Sudewo, B. (2004). *Tanaman Obat Populer Penggempur Aneka Penyakit*. Yogyakarta: Agomedia Pustaka.
- Sukardiman., Abdul, R., Nadia, F.P. 2004. Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Esktrak Metanol *Marchantia cf. planiloba* Steph. Dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga*. Vol. 4 No. 03.
- Yohanes, A, K. Fatimahwali. Weny, I, W. (2012). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea india* L.). *Jurnal*. Program Study Farmasi FMIPA UNSRAT. Manado