



## PRE-ELIMINARY STUDI AKTIVITAS SITOTOKSIK BIOTA LAUT PANTAI SEKILAK BATAM TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach)

Hesti Marliza<sup>1</sup>, Nurliyassman<sup>2</sup>, Reny Haryani<sup>3\*</sup>, Veranicha Lestari<sup>4</sup>

<sup>1,2,3,4</sup> Prodi Farmasi, Institut Kesehatan Mitra Bunda, Batam, Indonesia

\*Email : [renyharyani1@gmail.com](mailto:renyharyani1@gmail.com)

### ABSTRAK

#### Detail Artikel

Diterima : 20 April 2022  
Direvisi : 22 April 2022  
Diterbitkan : 28 April 2022

#### Kata Kunci

Marine biota.  
BSLT  
secondary metabolites  
Toxicity test

#### Penulis Korespondensi

Name : Reny Haryani  
Affiliation : Institut Kesehatan Mitra Bunda, Batam  
E-mail : [Renyharyani1@gmail.com](mailto:Renyharyani1@gmail.com)

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki perairan laut yang sangat luas, serta kaya akan sumber daya alam dan keanekaragaman biota laut, salah satunya di Pantai Sekilak Batam. Biota laut memiliki berbagai jenis senyawa bioaktif, diantaranya memiliki aktivitas sebagai antikanker. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam biota laut yang didapat dari Pantai Sekilak Batam dan untuk mengetahui biota laut manakah yang berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik. Sampel yang digunakan adalah empat biota laut yang berasal dari pantai Sekilak Batam. Metode penelitian menggunakan metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Hasil penelitian metabolit sekunder pada keempat sampel biota laut yang mengandung flavonoid yaitu *Halimeda opuntia*, *Halimeda makroloba*, *Amphiroa fragilissima*, *Sinularia polydactyla*. Alkaloid yaitu *Halimeda opuntia*, *Sinularia polydactyla*. Saponin yaitu *Halimeda opuntia*, *Halimeda makroloba*, dan *Amphiroa fragilissima*. Steroid yaitu *Halimeda makroloba* dan *Amphiroa fragilissima*, dan positif triterpenoid pada *Sinularia polydactyla*. Pada hasil uji aktivitas sitotoksik keempat biota laut menunjukkan hasil dengan nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh dari ekstrak *Halimeda opuntia* sebesar 36,47 ppm *Halimeda macroloba* sebesar 35,48 ppm, *Sinularia polydactyla* sebesar 37,15 ppm, *Amphiroa fragilissima* sebesar 36,47 ppm. Pada hasil uji aktivitas sitotoksik keempat biota laut memiliki efek toksik dengan kategori toksik yaitu <1000 ppm.

## **A B S T R A C T**

*Indonesia is an archipelagic country that has very wide marine waters, and is rich in natural resources and marine biota diversity of marine life. one of which is Sekilak Beach. Marine biota has various types of new bioactive compounds, including having anticancer activity. The purpose of this study was to determine the content of secondary metabolites contained in marine biota obtained from Batam's Sekilak Beach and to find out which marine biota had the potential to have cytotoxic activity obtained. The samples used were four marine biota from Sekilak beach, Batam. The research method used the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method. The results of secondary metabolite research on the four samples of marine biota containing flavonoids were *Halimeda opuntia*, *Halimeda makroloba*, *Amphiroa fragilissima*, *Sinularia polydactyla*. Alkaloids namely *Halimeda opuntia*, *Sinularia polydactyla*, *Halime saponin*, *Halimeda opuntia*. *Macroloba*, and *Amphiroa fragilissima*. Steroids, namely *Halimeda makroloba* and *Amphiroa fragilissima*, and positive for triterpenoids in *Sinularia polydactyla*. In the cytotoxic activity test results of the four marine biota, the  $LC_{50}$  value obtained from *Halimeda macroloba* extract was 35.43 ppm *Halimeda opuntia* was 36, 45 ppm, *Sinularia polydactyla* 37,15 ppm, *Amphiroa fragilissima* 36.45 ppm In the results of the cytotoxic activity test, the four marine biota have a toxic effect with atoxic category of <1000 ppm.*

## **PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki perairan laut yang sangat luas, serta kaya akan sumber daya alam dan keanekaragaman biota laut. Salah satunya di Pantai Sekilak Batam, Kepulauan Riau. Biota laut merupakan salah satu kekayaan alam yang tak ternilai harganya. Berbagai usaha telah dilakukan manusia untuk mengetahui manfaat yang terkandung dalam biota laut. Usaha yang tak kenal lelah mulai menunjukkan hasil dengan ditemukannya berbagai jenis senyawa bioaktif, diantaranya memiliki aktivitas sebagai antikanker pada biota laut (Mulawarmanti, 2019).

Penelitian sebelumnya melakukan ekstraksi rumput laut dengan pelarut metanol bersifat toksik terhadap *A. salina* dengan nilai  $LC_{50}$  yaitu 40,2438 ppm (Kaharudin, 2018).

Biota Laut kaya akan serat dan nutrisi yang bermanfaat bagi tubuh dan juga memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder, diantaranya: flavonoid, saponin, tanin, steroid, triterpenoid, dan alkaloid. Senyawa flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya apoptosis. Apoptosis yaitu kematian sel terprogram dan berperan penting dalam penghambat kanker (Pebriana, dkk., 2008).

Antikanker diharapkan memiliki toksisitas yang selektif artinya dapat menghancurkan sel kanker tanpa merusak jaringan normal sekarang ini belum banyak obat antikanker yang memenuhi kriteria tersebut sehingga perlu dikembangkan obat baru yang mempunyai efek terapi yang baik. Obat antikanker yang ada umumnya selain memiliki khasiat sebagai antikanker obat tersebut juga bersifat merusak sel-sel yang tumbuh normal. Keadaan ini mendorong dilakukannya penelitian untuk menemukan antikanker yang diharapkan memiliki toksisitas selektif yaitu menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal (Muaja, dkk., 2013).

Dari latar belakang di atas peneliti tertarik untuk melakukan pengujian potensi aktivitas sitotoksik biota laut di Pantai Sekilak Batam menggunakan metode *Bhrine Shirm p Lethality Test* (BSLT). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dari beberapa ekstrak biota laut yang berpotensi sebagai antikanker.

## METODE PENELITIAN

### Pembuatan Ekstak

Sampel biota laut yang digunakan diperoleh dari Pantai Sekilak di daerah Batu Besar, Kecamatan Nongsa, Kepulauan Riau, Indonesia. Sampel dicuci bersih dengan air agar bebas dari zat pengotor. Pembuatan Ekstak dilakukan dengan cara maserasi. Ditimbang sampel biota laut lalu masukkan kedalam botol kaca, kemudian rendam dengan methanol selama 3x24 jam pada suhu kamar dan hindarkan dari cahaya. Selama proses maserasi filtrat sesekali di aduk. Setelah itu saring dan pisahkan dari ampasnya. Lakukan hingga filtrat mendekati bening. Maserat dikumpulkan dalam satu wadah, kemudian dievaporasi menggunakan *Rotary Evaporator* hingga tersisa ekstrak kasar/*crude extract*. Ekstak kasar kemudian ditimbang untuk mengetahui berat ekstrak kasar yang diperoleh (Martiningsih, 2014).

### Evaluasi Ekstak Biota Laut Pantai Sekilak Batam (Utami, Y,dkk., 2016).

#### a. Pemeriksaan Organoleptis

Penetapan dengan panca indera untuk mengamati organoleptik ekstrak yang meliputi bau, rasa, warna dan bentuk.

#### b. Pemeriksaan Rendemen Ekstak

Penetapan bobot jenis ekstrak dapat dilakukan dengan cara menimbang piknometer dalam keadaan kosong. Kemudian piknometer diisi penuh dengan air dan ditimbang. bobot air dapat ditentukan. Piknometer dikosongkan dan diisi penuh dengan ekstrak, lalu ditimbang.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel basah}} \times 100\%$$

#### c. Pemeriksaan Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan di panaskan kurs silikat bertutup 105°C selama 30 menit, timbang kurs silikat bertutup kosong, masukkan 2 gram ekstrak ke kurs yang telah dipanaskan dan ditara, masukkan kedalam oven dalam keadaan tertutup dan keringkan pada suhu 105°C selama 30 menit, dinginkan dalam desikator selama 15 menit, timbang hasil pengeringan, ulangi sebanyak 3 replikasi.

$$\text{Susut Pengeringan (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel basah}} \times 100\%$$

#### d. Pemeriksaan Kadar Abu

Uji kadar abu dilakukan dengan kurs silikat bertutup dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit, timbang kurs silikat bertutup kosong, masukkan 2 gr ekstrak ke kurs yang telah dipanaskan dan ditara, masukkan kedalam *furnace* lalu dipijarkan pada suhu 600°C selama 7 jam, keluarkan lalu dinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang kembali (Arel, dkk., 2018)

### **Pengujian Skrining Fitokimia Ekstrak Biota Laut Pantai Sekilak Batam (Harborne, 2006)**

Uji flavonoid, diambil ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan 3 ml etanol 70% lalu kocok dipanaskan, dan disaring, kemudian hasil filtrat ditambahkan 2 tetes HCl pekat dan 0,1 gram serbuk magnesium (dekstrak dengan amil alkohol). Apabila positif flavonoid maka pada lapisan amil alkohol berbentuk cincin yg berwarna merah, kuning, dan jingga (Harborne, 2006).

Uji alkaloid, diambil ekstrak simplisiadimasukan kedalam tabung reaksi tambahkan 5 ml kloroform amoniak 0.05 N, diaduk perlahan lalu itambahkan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N kocok hingga terbentuk dua lapisan kemudian ambil lapisan atas(asam) masukkan kedalam tabung reaksi tambahkan sebanyak 2 tetes reagen mayer. Jika positif terdapat alkaloid akan ditandai dengan terbentuknya endapan putih.

Uji saponin, diambil ekstrak masukkan kedalam tabung reaksi kemudian tambahkan beberapa tetes air panas lalu kocok 5 menit. Diteteskan 1 tetes HCl 2N. Apabila positif saponin akan ditandai dengan adanya busa yang stabil atau permanen.

Uji tanin, diambil ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan gelatin. Apabila terbentuk endapan putih maka sampel tersebut mengandung tanin.

Uji steroid/triterpenoid, diambil ekstrak sampel dicampur dengan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 5 ml kloroform kemudian ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat melalui dinding tabung reaksi. Jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet maka positif triterpenoid dan apabila positif steroid akan terbentuk cincin biru kehijauan.

### **Pengujian Sitotoksik Ekstrak Biota Laut Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach)**

#### **a. Penyiapan Larva udang (*Artemia salina* Leach)**

Penyiapan larva dilakukan dengan mengambil telur *A.salina* Leach sebanyak ±50 mg. penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut sebanyak 1 L dan diberi penerangan dengan lampu pijar 40-60 watt serta diaerasi selama 48 jam (Handayani, dkk., 2012).

#### **b. Pembuatan Larutan Stok**

Penyiapan Larutan Stok dibuat dengan cara menimbang masing-masing ekstrak kental sebanyak 30 mg, kemudian dilarutkan dalam 3 mL metanol. Larutan ini digunakan sebagai larutan induk. Pengujian aktivitas dilakukan dengan 4 variasi konsentrasi yaitu 1000, 100, 10 ppm, dan 0 ppm (sebagai kontrol negatif) setiap konsentrasi dibuat 3 seri pengulangan (Handayani, dkk., 2012).

#### **c. Uji Toksisitas**

Uji toksisitas dilakukan dengan cara memipet masing-masing 5, 50, dan 500 µL dari larutan induk masukkan kedalam masing-masing vial, setelah itu larutan uji dimasukkan dalam desikator sampai semua pelarutnya menguap. Ekstrak yang sudah kering dari masing-masing vial dilarutkan 50 µl DMSO, kemudian ditambahkan air laut ± 2 mL. Masukkan 10 larva udang ke dalam masing-masing vial, kemudian volume ditepatkan hingga 5 mL dengan air laut. Disiapkan control negatif dengan cara dipipet 50 µL DMSO dimasukkan kedalam vial dan ditepatkan volumenya hingga 5 mL dengan air laut. kematian larva udang diamati setelah 24 jam dan nilai LC<sub>50</sub> dapat dihitung jumlah larva yang mati Masing- masing konsentrasi

dibuat 3 kali pengulangan (Handayani, dkk., 2012).

### Analisa Data

Data yang diperoleh, dianalisis menggunakan persamaan regresi linier menggunakan *Microsoft excel*, lalu dijabarkan dalam bentuk table dan grafik dan ditarik kesimpulan dengan mencari nilai LC<sub>50</sub>.

Aktivitas sitotoksik biota laut di Pantai Sekilak Batam menggunakan metode *Bhrine Shirmp Lethality Test* (BSLT). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah dari beberapa ekstrak biota laut yang berpotensi sebagai antikanker.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Biota Laut (*Halimeda macroloba*, *Halimeda opuntia*, *Sinularia polydactyla*, *Amphiroa fragilissima*) yang diambil dari pantai Sekilak Batam. Pemilihan sampel ini dikarenakan ketersediaan jumlah keempat sampel biota laut tersebut lebih banyak dibandingkan biota laut yang lainnya.

Pada uji rendemen *Halimeda opuntia* diperoleh hasil 0,6%, *Halimeda macroloba* sebanyak 1,87%. *Smphiroa fragilissima* 5,11%, *Sinularia polydactyla* sebanyak 4,49%. Hasil rendemen yang paling tinggi terdapat pada sampel *Sinularia polydactyla*. Semakin tinggi hasil rendemen menunjukkan bahwa semakin banyak senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel.

Evaluasi dan standarisasi ekstrak yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji organoleptis ekstrak *Halimeda opuntia*, *Halimeda macroloba*, *Amphiroa fragilissima* menunjukkan bentuk ekstrak kental dengan warna hijau bau amis dan rasa asin, *Sinularia polydactyla* menunjukkan bentuk ekstrak kental dengan warna coklat bau amis dan rasa asin. Uji organoleptis ini bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak secara objektif dan sederhana yang dilakukan dengan menggunakan panca indra.

**Tabel 1. Organoleptik dan Rendemen**

Sampel	Bentuk	Warna	Bau	Rasa
<i>Halimeda opuntia</i>	Ekstrak kental	Hijau	Amis	Asin
<i>Halimeda macroloba</i>	Ekstrak kental	Hijau	Amis	Asin
<i>Amphiroa fragilissima</i>	Ekstrak kental	Hijau	Amis	Asin
<i>Sinularia polydactyla</i>	Ekstrak kental	Coklat	Amis	Asin

Pada uji bobot jenis ekstrak *Halimeda opuntia* diperoleh hasil 0,947 gr/mL, *Halimeda macroloba* 0,995 gr/ml, *Amphiroa fragilissima* 0,965 gr/ml, *Sinuralia polydactyla* 1,029 gr/ml. Pemeriksaan bobot jenis ekstrak bertujuan untuk mengetahui jumlah dan jenis komponen atay zet yang larut di dalamnya dari hasil diperoleh dapat diketahui bahwa pelarut



metanol dapat menarik senyawa paling banyak pada biota laut *Sinularia polydactyla*.

Pada uji susut pengeringan *Halimeda opuntia* diperoleh hasil 31,25%, *Halimeda macroloba* 37%, *Amphiroa fragilissima* 13,8%, *Sinularia polydactyla* 15,5%. Nilai susut pengeringan pada sampel biota laut ini melampaui persyaratan susut pengeringan menurut yaitu <11%. Hal ini dikarenakan sampel yang digunakan merupakan biota laut yang mana di ambil langsung dari dalam air tentunya memiliki kadar air yang sangat banyak dan sampel diperlakukan dalam kondisi basah atau sampel segar (Depkes RI, 2008).

Pada uji kadar abu *Halimeda opuntia* diperoleh hasil 26,5%, *Halimeda macroloba* 36,5%, *Amphiroa fragilissima* 43,5%, *Sinularia polydactyla* 23%. Nilai yang diperoleh dari penetapan kadar abu total biota laut melampaui persyaratan kadar abu total menurut yaitu < 16,6%. Hal ini diduga berhubungan dengan cara penyerapan mineralnya, disamping sebagai bentuk adaptasi terhadap kondisi lingkungan perairan laut yang mengandung berbagai mineral dengan konsentrasi tinggi. Banyaknya hara mineral yang diserap mempengaruhi jumlah kadar abu (Depkes RI, 2008).

**Tabel 2. Standarisasi Ekstrak**

<b>Sampel</b>	<b>Rendemen %</b>	<b>Bobot jenis gr/ml</b>	<b>Susut pengeringan %</b>	<b>Kadar Abu %</b>
<i>Halimeda opuntia</i>	0,947	0,947	31,25	26,5
<i>Halimeda macroloba</i>	0,995	0,995	37	36,5
<i>Amphiroa fragilissima</i>	0,965	0,965	13,8	43,5
<i>Sinularia polydactyla</i>	1,029	1,029	15,5	23

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesis dari tumbuhan. Contoh dari metabolit sekunder adalah antara lain terpenoid, steroid, alkaloid dan fenolik (Marliza, 2020). Berdasarkan pengujian metabolit sekunder yang telah dilakukan pada keempat jenis ekstrak biota laut menunjukkan positif flavonoid pada keempat sampel, positif alkaloid pada *Halimeda opuntia* dan *Sinularia Polydactyla*, Positif saponin pada *Halimeda opuntia*, *Halimeda makroloba*, dan *Amphiroa fragilissim*, Positif steroid pada *Halimeda makroloba* dan *Amphiroa fragilissima*, dan positif triterpenoid pada *Sinularia polydactyla*.

**Tabel 3. Metabolit Sekunder**

<b>Metabolit Sekunder</b>	<b>Ekstrak Metanol</b>				<b>Hasil pengamatan (+)</b>
	<b>S.1</b>	<b>S.2</b>	<b>S.3</b>	<b>S.4</b>	
<b>Flavonoid</b>	+	+	+	+	<b>Cincin Merah/Kuning/Jingga</b>
<b>Alkaloid</b>	+	-	-	+	<b>Endapan Putih</b>
<b>Saponin</b>	+	+	+	-	<b>Busa bertahan selama lebih dari 10 detik</b>
<b>Tanin</b>	-	-	-	-	<b>Endapan Kekuningan</b>
<b>Steroid</b>	-	+	+	-	<b>Cincin Biru Kehijauan</b>

Berdasarkan hasil pengujian toksisitas di dapat nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak metanol *Halimeda opuntia* yaitu 36,47 ppm, *Halimeda macroloba* 35,48 ppm, *Amphiroa fragilissima* 36,47 ppm, *Sinularia polydactyla* 37,15 ppm.

Concentration %	Ppm	Log (ppm)	Probit	%kematian	mortality	Total	LC <sub>50</sub>
0,1	1000	3	8,09	100%	30	30	36,47 ppm
0,01	100	2	6,28	90%	27	30	
0,001	10	1	5	53%	16	30	
0	0	0	0	0%	0	30	

**Gambar 1. LC<sub>50</sub> ekstrak metanol *Halimeda opuntia***

Concentration %	ppm	Log(ppm)	Probit	%Dead	mortality	total	LC <sub>50</sub>
0,1	1000	3	8,09	100%	30	30	35,48 ppm
0,01	100	2	6,48	93%	28	30	
0,001	10	1	4,92	47%	14	30	
0	0	0	0	0%	0	30	

**Gambar 2. LC<sub>50</sub> ekstrak metanol *Halimeda macroloba***

Concentration %	ppm	Log(ppm)	<u>Probit</u>	%Dead	mortality	total	LC <sub>50</sub>
0,1	1000	3	8,09	100%	30	30	37,15 ppm
0,01	100	2	6,28	90%	27	30	
0,001	10	1	4,92	47%	14	30	
0	0	0	0	0%	0	30	

**Gambar 3. LC<sub>50</sub> ekstrak metanol *Sinularia polydactyla***

Concentration %	ppm	Log(ppm)	<u>Probit</u>	%Dead	mortality	total	LC <sub>50</sub>
0,1	1000	3	8,09	100%	30	30	37,15 ppm
0,01	100	2	6,28	90%	27	30	
0,001	10	1	4,92	47%	14	30	
0	0	0	0	0%	0	30	

**Gambar 3. LC<sub>50</sub> ekstrak metanol *Amphiroa fragilissima***

Hal ini menunjukkan bahwa keempat ekstrak tersebut memiliki sifat toksik yang tidak jauh berbeda. Semakin tinggi nilai konsentrasi ekstrak maka semakin tinggipula tingkat kematian dan berpotensi sebagai anti kanker. Suatu ekstrak bersifat sangat toksik apabila mempunyai LC<sub>50</sub><30 ppm, bersifat toksik apabila mempunyai LC<sub>50</sub> 30-1000 ppm, dan bersifat tidak toksik apabila mempunyai LC<sub>50</sub> >1000 ppm. LC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi yang dapat mematikan 50% larva udang. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar tingkat kematian larva udang, dimana tingkat kematian tertinggi terdapat pada konsentrasi 1000 ppm sedangkan kematian terendah terdapat pada konsentrasi 10 ppm.



## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Semua sampel biota laut menunjukkan positif flavonoid, positif alkaloid pada *Halimeda opuntia* dan *Sinularia polydactyla*, Positif saponin pada *Halimeda opuntia*, *Halimeda makroloba*, dan *Amphiroa fragilissima*, Positif steroid pada *Halimeda makroloba* dan *Amphiroa fragilissima*, dan positif triterpenoid pada *Sinularia polydactyla*.
2. Semua sampel biota laut memiliki aktivitas sitotoksik dimana sampel *Halimeda opuntia* memiliki sifat toksik 36,47ppm, *Halimeda macroloba* 35,43 ppm, *Sinularia polydactyla* 37,15 ppm, *Amphiroa fragilissima* 36,47 ppm dengan kategori kategori bersifat toksik yaitu 30-1000 ppm.

## SARAN

Disarankan untuk melakukan uji sitotoksik dengan pelarut lain dan dengan metode yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Mulawarmanti, D. (2019). Biota Laut Sebagai Alternative Bahan Obat (Pemanfaatan Teripang Emas Sebagai Terapi Ajuvan Di Kedokteran Gigi). Prosiding Seminakel, 1–10. <http://prosidingseminakel.hangtuah.ac.id/index.php/ps/article/view/256>.
- Kaharudin, Z. (2018). Toksisitas Ekstrak Rumput Laut *Eucheuma Cottonii* Dengan Pelarut Metanol (Meoh) Dan N- Heksana Terhadap Larva *Artemia Salina*. Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Riau Pekanbaru. 2018.
- Pebriana, R. B., Wardhani, B. W. K., Widayanti, E., Wijayanti, N. L. S., Wijayanti, T. R., Riyanto, S., & Meiyanto, E. (2008). Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Pemacu Apoptosis Sel Kanker Payudara. *Pharmacon*, 9(1), 21–26.
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA*, 2(2), 115. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3000>
- Martiningsih, N. W. (2014). Skrining Awal Ekstrak Etil Asetat Spons *Dysidea* Sp. Sebagai Antibakteri. Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA IV Tahun, 299–305.
- Utami, Y. ., Taebe, B., & Fatmawati. (2016). Standardisasi Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Murbei (*Morus alba* L.) Asal Kabupaten Soppeng Provinsi Sulawesi Selatan. *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(2), 48–52.

- Harbone. (2006). *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Afifah R. (2020). Skrining Fitokimia Familia Piperaceae. *Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya (JB&P)*, 7(1), 28–32.  
<https://doi.org/10.29407/Jbp.V7i1.14805>.
- Handayani, D., Yulia, M., & Allen, Y. (2012). Isolasi Senyawa Sitotoksik Dari Spons Laut *Petrosia* Sp. *JPB Perikanan*, 7(1), 69–76.
- Depkes, RI. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.