

Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality* (BSLT)

Evaluation of Cytotoxicity of Arabica Coffee Fruit Skin (*Coffea arabica* L.) and Dayak Onion (*Eleutherine palmifolia* L.) Etanol Extracts Using Brine Shrimp Lethality (BSLT) Methods

Husna Fitri, Rita Maliza*, Era Refiani, Alfiatul Laila, Melinda Widyaningrum

*) Email korespondensi: ritamaliza@bio.uad.ac.id

Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan, Jl. Ringroad Selatan, Kragilan, Tamanan, Kec. Banguntapan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta 55191, Indonesia

ABSTRAK

Kulit kopi (*Coffea arabica* L.) dan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) merupakan salah satu tanaman endemik Indonesia. Tanaman ini memiliki kandungan senyawa flavonoid, tanin, kafein dan polifenol. Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa tersebut memiliki khasiat sebagai antioksidan, anti inflamasi, anti bakteri untuk obat tumor, radang, dan anti kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksisitas ekstrak kulit kopi dan bawang dayak terhadap kematian larva udang (*Artemia salina* Leach) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan variasi konsentrasi (ppm), yaitu 0, 20, 50, 100, 250, 500, dan 1000 ppm. Hasil uji BSLT menunjukkan ekstrak kulit kopi memiliki nilai $LC_{50} = 51.7369$ ppm dan bawang dayak memiliki nilai $LC_{50} = 70.9741$ ppm. Ini menunjukkan ekstrak kulit kopi dan Bawang Dayak bersifat toksik karena mampu membunuh 50% dari larva udang. Penelitian ini merupakan penelitian awal untuk menganalisa aktivitas toksisitas dari senyawa aktif bahan alam. Penelitian ini menunjukkan ekstrak kulit kopi memiliki aktivitas toksik lebih baik terhadap kematian larva udang daripada ekstrak bawang dayak.

Kata kunci: kulit kopi; LC_{50} ; arabica; bawang dayak; BSLT; antikanker.

ABSTRACT

Coffee husk (Coffea arabica L.) and Dayak onion (Eleutherine palmifolia L.) are Indonesian endemic plants. This plant contains flavonoid compounds, tannins, caffeine, and polyphenols. Based on previous research, these compounds have antioxidants, anti-inflammatory, anti-bacterial properties for treating tumors, inflammation, and anti-cancer. This study aimed to determine the toxicity activity of Dayak coffee and onion peel extract on the mortality of shrimp larvae (Artemia salina Leach) using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method and variations in concentration (ppm), namely 0, 20, 50, 100, 250, 500, and 1000 ppm. The results of the BSLT test showed that the coffee peel extract had an LC_{50} value of 51.7369 ppm and the Dayak onion had an LC_{50} value of 70.9741 ppm. This result shows that the extracts of coffee skin and Dayak Onion are toxic because they can kill 50% of shrimp larvae. This research is a preliminary study to analyze the toxicity of the active compounds of natural ingredients. This study showed that coffee peel extract had better toxic activity against shrimp larvae mortality than Dayak onion extract.

Keywords: coffee leather; LC_{50} ; arabica; dayak onion; BSLT; anticancer.

I. PENDAHULUAN

Indonesia dikenal dengan negara megabiodiversitas yang memiliki kekayaan flora dan fauna (Kusmana dan Agus, 2015). Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional sangat menjamin kesehatan masyarakat. Sebagaimana menurut Permenkes tentang penggunaan obat tradisional sebelum menjadi suatu sediaan fitofarmaka harus melewati beberapa tahapan uji yaitu farmakologi eksperimental, uji toksisitas, uji klinis, uji kualitas dan pengujian lainnya demi keamanan pengguna. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang kandungan senyawa bioaktif baik dari tumbuhan, hewan, mikroba dan organisme lainnya. Salah satu sumber senyawa aktif yang berasal dari tumbuhan yaitu kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) dan bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.).

Kulit buah kopi arabika belum dimanfaatkan secara maksimal. Selama ini hanya sebagai kompos, pakan ternak, fermentasi jamur, dan Cascara tea (Bondesson, 2015). Kulit buah kopi arabika mengandung senyawa aktif antosianin, polifenol, tanin, flavonoid, kafein, asam klorogenat, dan asam perulik. Senyawa-senyawa ini berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri (Masruri et al., 2019). Menurut Geremu et al., (2016), kulit buah kopi arabika memiliki aktivitas antioksidan 70.2% yang berpotensi sebagai antikanker, antiseptic, dan antiinflamasi. Begitu pula pada bawang dayak yang mengandung senyawa aktif alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, kuinon, steroid, zat tannin, dan minyak atsiri (Puspawati et al., 2013). Bagian daun dan akar mengandung flavonoid dan polifenol (Naspiah et al., 2014). Umbi bawang dayak memiliki potensi sebagai obat tumor, radang, menghentikan pendarahan (hemostatik), memperlancar air seni (efek diuretik), menghilangkan nyeri, obat disenteri, dan juga sebagai obat kanker (kanker payudara, usus) dan prostat (Abdullah et al., 2011).

Uji toksisitas merupakan suatu uji untuk mengetahui aktivitas farmakologis suatu senyawa yang terjadi dalam waktu yang singkat. Prinsip ini untuk mengetahui pengaruh yang dihasilkan dari suatu ekstrak yang diberikan kepada hewan uji, yang merupakan uji pra skrining senyawa bioaktif antikanker. Salah satu metode awal untuk mengetahui suatu tumbuhan memiliki kandungan senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai antikanker adalah menggunakan metode Meyer yaitu *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini untuk menentukan potensi suatu senyawa mampu mematikan larva dalam waktu yang pendek sebesar 50% sebagai LC50 (*letal concentration*). Penelitian ini bertujuan untuk menghitung dan menganalisis tingkat toksisitas serta membandingkan kemampuan toksisitas ekstrak etanol kulit buah kopi arabika dan ekstrak etanol bawang dayak terhadap kematian larva udang (*Artemia salina* Leach).

II. METODE PENELITIAN

1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2020 di Laboratorium Riset Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan (UAD).

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu gelas ukur, botol jam, pipet ukur, pipet tetes, aerator, aquarium, lampu, kertas hitam, kaca pembesar. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) dan Bawang dayak

(*Eleutherine palmifolia* L.), larva udang (*Artemia salina* Leach.), air laut, aquades, etanol 96%, suspensi ragi (Fermipan).

3. Pengolahan Sampel

Kulit buah kopi arabika didapatkan dari Klaten Jawa Tengah dan Bawang Dayak dari Pasar Anyar Kabupaten Bogor. Kulit buah kopi arabika dan bawang dayak dikering anginkan selama 3-4 hari dan dihaluskan. Simplisia kulit buah kopi arabika dan bawang dayak masing-masing ditimbang sebanyak 500 gram dimasukkan kedalam bejana maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 5x24 jam. Filtrat hasil maserasi digabung lalu dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang akan diuji dibuat dalam perlakuan 0 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm dengan menggunakan air laut, dilakukan pengenceran bertingkat dari larutan stok 1000 ppm dari ekstrak etanol kulit buah kopi dan ekstrak etanol bawang dayak.

4. Penetasan Telur Udang

Telur udang ditetaskan dalam aquarium yang berisi air laut disimpan di ruangan yang dilengkapi bohlam/lampu dengan aerasi yang baik selama 48 jam pada suhu kamar. Suatu pembatas dari plastik dan diberi lubang berdiameter 2 mm digunakan untuk membuat dua kompartemen, yaitu kompartemen gelap dan terang. Kompartemen terang dibuat dengan bantuan penerangan lampu sedangkan yang gelap ditutup dengan kertas hitam. Telur sebanyak 10 gram diletakkan dalam kompartemen gelap. Setelah menetas, larva yang berada dikompartemen terang diambil menggunakan pipet tetes.

5. Pengujian Toksisitas Ekstrak dengan Metode BSLT

Sepuluh ekor larva udang berukuran 0,25 mm dimasukkan didalam botol jam yang sudah berisi larutan ekstrak dengan variasi konsentrasi yang sudah ditentukan. Kemudian ditambahkan 1 tetes suspensi ragi (3 mg dalam 10 ml air) kedalam tiap botol jam, diamati setelah 24 jam. Jumlah larva udang yang mati dalam waktu 24 jam tersebut kemudian dihitung. Bila ada kematian pada kontrol, dikoreksi dengan rumus Abbot's (Widyasari *et al.*, 2018), menurut Persamaan 1.

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva total awal}} \times 100\% \text{ ----- (1)}$$

6. Analisis Data

Analisis data menggunakan metode probit dengan menghitung persentase kematian dan nilai logaritma dari konsentrasi yang digunakan. Selain itu, bisa juga analisis menggunakan *Microsoft Excel* dengan membuat persamaan garis lurus yang menghubungkan antara nilai log konsentrasi dengan nilai probit persentase kematian. Penentuan toksisitas didasarkan pada analisis probit dengan menentukan persamaan garis linier antara konsentrasi log (x) dan nilai probit (y). Persamaan linier yang diperoleh digunakan untuk menentukan konsentrasi kematian 50% *Artemia salina* Leach.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstraksi dan Rendemen Kulit Buah Kopi dan Bawang Dayak

Nilai rendemen menunjukkan keefisienan suatu bahan baku atau simplisia agar dapat

diubah menjadi produk. Satuan yang digunakan untuk menunjukkan nilai rendemen adalah persen (%). Hasil rendemen ekstrak kulit buah kopi arabika dan bawang dayak yang diperoleh dipengaruhi oleh beberapa macam faktor diantaranya kualitas dari simplisia dan jenis. Nilai rendemen merupakan salah satu parameter mutu ekstrak. Menurut Armando (2009), semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Hasil ekstraksi kulit buah kopi arabika diperoleh ekstrak sebanyak 42,4 gram dan hasil ekstraksi bawang dayak sebanyak 42,2 gram berwarna coklat pekat. Persen rendemen suatu ekstrak didapat dengan cara membagi jumlah rendemen ekstrak dengan berat serbuk sebelum ekstraksi kemudian dikalikan 100%. Sehingga diperoleh persen rendemen kulit buah kopi arabika yaitu 8% dan persen rendemen bawang dayak yaitu 3%.

2. Pengujian BSLT

Uji BSLT ini merupakan langkah awal pencarian senyawa aktif baru yang aman digunakan untuk kandidat obat antikanker. Uji toksisitas dilakukan untuk menentukan efek toksik setelah pemberian dosis dalam waktu 24 jam. Uji toksisitas menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam sebanyak 350 ekor pada setiap botol jam terdapat 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach. Metode yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality* (BSLT) dengan tujuan menentukan konsentrasi yang dibutuhkan pada ekstrak etanol kulit buah kopi (*Coffea arabica* L.) dan bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) yang bisa membunuh 50% hewan uji. Hasil uji disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Jumlah larva *Artemia salina* yang mati/10 larva karena pengaruh ekstrak etanol kulit buah kopi (*Coffea arabica* L.) setelah waktu 24 jam dan nilai LC₅₀ pada uji BSLT.

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Jumlah Larva <i>Artemia salina</i> yang mati tiap jar					Rerata + SD Larva mati	% Mortalitas	Probit	LC ₅₀ (ppm)
		P1	P2	P3	P4	P5				
1000	3	10	10	10	10	9	9.8±0.4	98	7.05	
500	2.699	9	8	8	10	7	8.4±1.1	84	5.99	
250	2.398	6	7	7	7	7	6.8±0.4	68	5.47	
100	2	4	3	5	6	2	4.0±1.6	40	4.75	51.7369
50	1.699	6	2	5	3	3	3.8±1.6	38	4.69	
20	1.301	3	4	4	3	3	3.4±0.5	34	4.59	
Kontrol	0	1	1	2	0	0	0.8±0.8	8	3.59	

Keterangan: P = Pengulangan ke 1-5, LC₅₀ = Lethal Concentration 50.

Mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach pada setiap tabung uji menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi ekstrak etanol kulit buah kopi arabika dan bawang dayak memiliki pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach. Uji BSLT ini dapat menentukan nilai LC₅₀ yang tepat dari ekstrak etanol kulit buah kopi arabika dan bawang dayak. Hasil pengujian BSLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) memiliki nilai LC₅₀ = 51.7639 ppm dan ekstrak etanol bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) memiliki nilai LC₅₀ = 70,9741 ppm. LC₅₀

merupakan konsentrasi dari suatu senyawa kimia di udara atau dalam air yang dapat menyebabkan kematian 50% pada suatu populasi hewan uji. LC₅₀ bertujuan untuk menguji ketoksikan terhadap hewan uji secara berkelompok, ketika hewan uji dipaparkan suatu bahan sehingga dapat menentukan tingkat efek toksik suatu senyawa dan berpotensi sebagai obat antikanker.

Tabel 2. Jumlah larva *Artemia salina* yang mati/10 larva karena pengaruh ekstrak etanol Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) setelah waktu 24 jam dan nilai LC₅₀ pada uji BSLT.

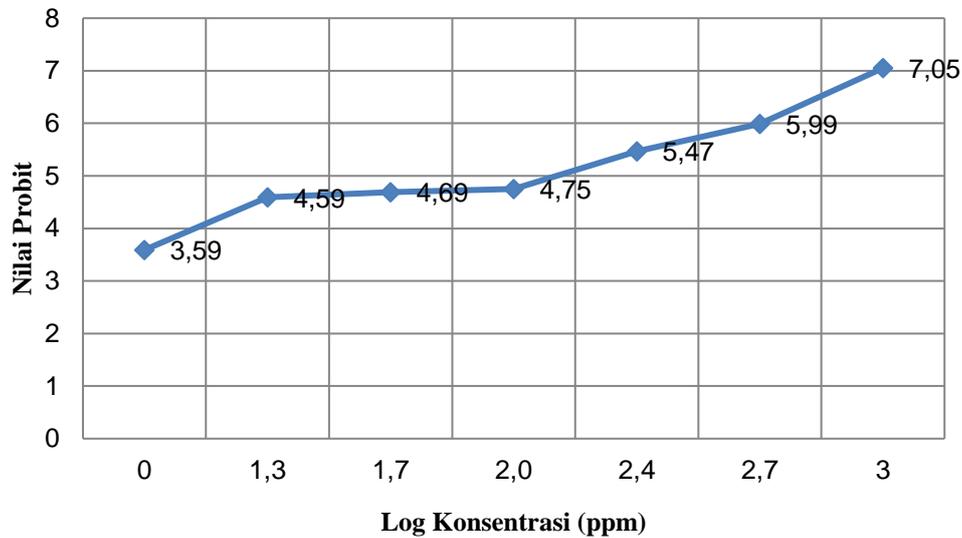
Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Jumlah Larva <i>Artemia salina</i> yang mati tiap jar					Rerata + SD Larva mati	% Mortalitas	Probit	LC ₅₀ (ppm)
		P1	P2	P3	P4	P5				
1000	3	10	9	10	10	10	9.8±0.4	98	7.05	70.9741
500	2.699	8	6	7	6	7	6.8±0.8	68	5.47	
250	2.398	4	5	4	5	4	4.4±0.5	44	4.85	
100	2	4	4	4	4	4	4.0±0.0	40	4.75	
50	1.699	3	4	5	1	6	3.8±1.9	38	4.69	
20	1.301	1	3	2	6	5	3.4±2.1	34	4.59	
Kontrol	0	1	2	2	0	0	1.0±1.0	10	3.72	

Keterangan : P = Pengulangan ke 1-5, LC₅₀ = Lethal Concentration 50.

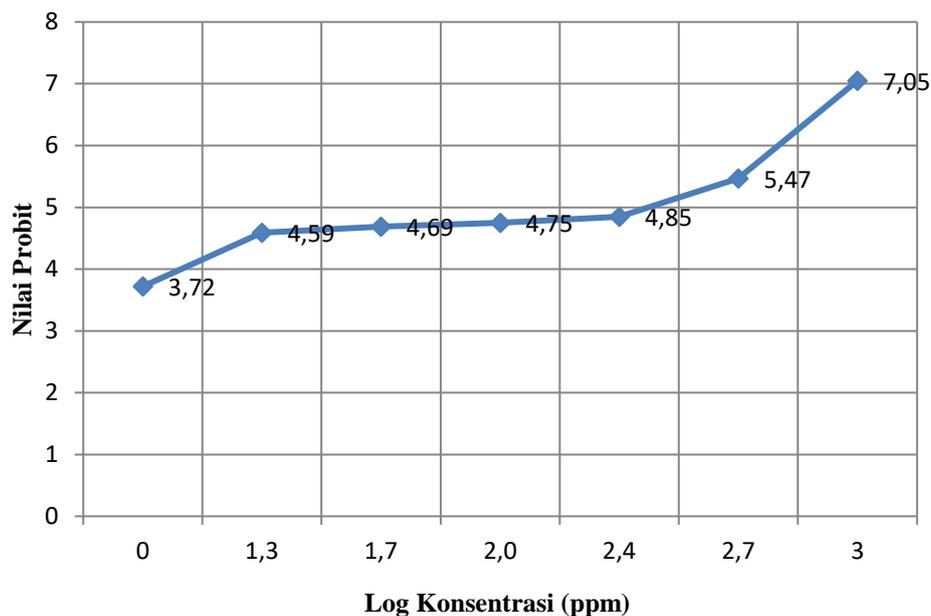
Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak etanol kulit buah kopi arabika dan bawang dayak mempunyai potensi toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Ekstrak etanol kulit kopi arabika dan bawang dayak memiliki nilai LC₅₀ yang berbeda namun sama-sama berpotensi sebagai kandidat obat antikanker. Ekstrak etanol kulit buah kopi arabika memiliki potensi paling tinggi karena nilai LC₅₀ paling rendah yaitu 51.7639 ppm artinya mampu membunuh 50 % hewan uji. Persen mortalitas yang diperoleh dari ekstrak kulit buah kopi arabika dan bawang dayak mencapai 98%. Nilai probit diperoleh dari tabel sesuai dengan persen mortalitas dari larva udang *Artemia salina* Leach.

Analisis probit dilakukan untuk mengetahui nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol kulit buah kopi arabika dan ekstrak etanol bawang dayak. Pada penelitian ini analisis menunjukkan hubungan antara persentase kematian larva *Artemia salina* Leach dengan konsentrasi ekstrak etanol kulit buah kopi arabika dan ekstrak etanol bawang dayak. Grafik hubungan antara log konsentrasi ekstrak etanol kulit buah kopi arabika terhadap nilai probit dapat dilihat pada Gambar 1 dan ekstrak etanol bawang dayak pada Gambar 2. Hal ini berkaitan dengan senyawa aktif yang terdapat dalam kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) dan bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.). Menurut Ulfa *et al* (2019), ekstrak kental biji pepaya bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ <1000 ppm sebesar 538.8 ppm mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid. Sebagaimana menurut Rampe *et al* (2015), ekstrak etanol jantung pisang *Musa paradisiaca* Linn memperoleh nilai LC₅₀ = 806,8 µg/mL memiliki kandungan senyawa aktif yaitu flavonoid, kumarin dan golongan fenolik lainnya yang bersifat toksik terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach). Menurut Suhandi *et al* (2020), senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, bertindak sebagai racun perut yang mengganggu saluran pencernaan. Senyawa ini dalam kadar tertentu mampu menghambat reseptor rasa dari mulut

larva, mengakibatkan larva tidak mampu mengenali makanannya. Ini akan menyebabkan larva mati kelaparan.



Gambar 1. Grafik regresi linier log konsentrasi ekstrak etanol kulit buah kopi (*Coffea arabica* L.) terhadap nilai probit.



Gambar 2. Grafik regresi linier log konsentrasi ekstrak etanol bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) terhadap nilai probit.

Hasil uji BSLT menunjukkan ekstrak tumbuhan yang bersifat toksik dapat dikembangkan untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif antikanker (Lestari *et al.*, 2019). Senyawa flavonoid dan tanin mempunyai efek antikanker sebagai antioksidan mengaktifkan jalur apoptosis sel kanker. Efek lain flavonoid adalah mampu menghambat proliferasi kanker dengan cara menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga jalur transduksi sinyal ke inti sel terhambat. Flavonoid juga

berfungsi untuk mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi (Muaja *et al.*, 2013). Mekanisme flavonoid sebagai antikanker yaitu berperan sebagai antioksidan, dengan cara mengaktifkan jalur apoptosis sel kanker. Selain itu flavonoid menghambat proliferasi kanker dengan cara menghambat aktivitas protein kinase membuat jalur transduksi sinyal dari membran ke inti sel terhambat

IV. KESIMPULAN

Uji toksisitas menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah kopi arabika (*Coffea arabica* L.) memperoleh nilai $LC_{50} = 51.7639$ ppm dan ekstrak etanol bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) memperoleh nilai $LC_{50} = 70.9741$ ppm. Ini menunjukkan ekstrak etanol kulit buah kopi arabika dan bawang dayak berpotensi sebagai kandidat obat antikanker.

REFERENSI

- Abdullah, Rizky, Puspitasari, Irma Melyani, dan Hendriyani, Rini (2011). Aktivitas Antikanker Ekstrak Bawang Tiwai (*Eleutherine americana*) pada Sel Kanker Prostat LNCaP. Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda (Litmud) Unpad. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Armando, R. (2009). *Memproduksi 15 Minyak Atsiri Berkualitas*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta, Hal : 71.
- Bondesson, Ebba. (2015). A Nutritional Analysis on the By- Product Coffee Husk and Its Potential Utilization in Food Production. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences, (415): 1–25.
- Geremu, Melkayo., Yetenayet, B.T., dan Abrar, Sualeh (2016). Extraction and Determination of Total Polyphenols and Antioxidant Capacity of Red Coffee (*Coffea arabica* L.) Pulp of Wet Processing Plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3(1): 1–6.
- Kusmana, Cecep., dan Agus Hikmat. (2015). The Biodiversity of Flora in Indonesia. *Journal of Natural Resources and Environmental Management* 5 (2): 187–98. <https://doi.org/10.19081/jpsl.5.2.187>.
- Lestari, Dwi, Rudi Kartika, and E.Marliana. (2019). Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Bulbosa* (Mill.) Urb) dan Uji Toksisitas Akut Fraksi Aktif. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia* 1(1):1–10. doi: 10.33759/jrki.v1i1.43.
- Masruri, Ahmad., Sumono, Agus., dan Indriana, Tecky. (2019). Arabica Coffee (*Coffea arabica* L.) Fruit Skin Potential Towards the Increase of Fibroblast Cells Amount Within Socket Post Tooth Extraction of Male Wistar Mouse Ahmad. *Health Notions*, 3(6): 273–78.
- Muaja, Arter., Koleangan, Harry., dan Runtuwene, Max. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Mipa Unsrat*, 2 (2): 115 - 118.
- Naspiah, N., Iskandar, Y., dan Moelyono, M. W. (2014). Review Article: Tiwai Onion (*Eleutherine americana* Merr.), multifunction plant. *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 4(2), 18–30. <http://jurnal.unpad.ac.id/ijas/article/view/16820>.

-
- Puspadewi, R., Adirestuti, P., dan Menawati, R (2013). Khasiat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Sebagai Herbal Antimikroba Kulit. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 1(1). <https://doi.org/10.26874/kjif.v1i1.21>.
- Rampe, M.J dan Joke, L.T. (2015). Pengujian Ftokimia dan Toksisitas Ekstrak Etanol Jantung Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca* Linn) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Sainsmat*, 4(2): 136–47.
- Suhandi, C., Willy, E., Fadhilah, N. A., Salsabila, N., G., A. K., Ambarwati, A. T., Wianatalie, E., Oktarina, D. R., Destiani, D. P., Sinuraya, R. K., dan Wicaksono, I. A. (2020). *Farmaka*, 18(1), 1–15.
- Ulfa, N.M., G, G.K., dan Lilit, M.Z. (2019). Analisis Uji Pendahuluan Aktivitas Antikanker Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Metode BSLT, 4(1).
- Wahyu Lesstari, Novia, Maulidiyah Salim, and Linda Triana. (2019). Potensi Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Pepaya Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa* 2 (1) : 12.
- Widyasari, Ratna, Dina Yuspitasari, Wilda Wildaniah, and Rosi Cahayuni. (2018). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa bunge*) Terhadap Larva *Artemia salina* L. Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).” *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 3(1): 51–58.