

## UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAN FRAKSI KULIT BIJI KEBIUL (*Caesalpinia bonduc* L.) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST*

**Muhammad Hernanda<sup>1</sup>, Dwi Fitri Yani<sup>2\*</sup>, dan Fitria Wijayanti<sup>3</sup>**

*Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang,  
Palembang, Sumatera Selatan 30126, Indonesia  
Email: [dwifitriyani\\_uin@radenfatah.ac.id](mailto:dwifitriyani_uin@radenfatah.ac.id)*

### ABSTRACT

*This study aimed to determine the toxic activity of the extract, ethanol fraction and n-hexane fraction of Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) seed coat against *Artemia salina* Leach. using the BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Phytochemical test results ethanol fraction of the kebiul seed are alkaloids, tannins, flavonoids, saponins, steroids and terpenoids. Phytochemical test results n-hexane fraction of the kebiul seed are alkaloids, tannins, flavonoids, saponins, steroids and terpenoids. Toxicity test  $LC_{50}$  of seed coat of kebiul are 160,567 ppm; 174,858 ppm; and 168,219 ppm. Toxicity activity of the extract, ethanol fraction and n-hexane fraction of kebiul seed coat (*Caesalpinia bonduc* L) with brine shrimp lethality test (bslt) has toxic potential to be used as anticancer because it has an  $LC_{50}$  value of <1000 ppm.*

*Keywords: Brine Shrimp Lethality Test, Kebiul seed coat, Toxicity Test*

### PENDAHULUAN

Indonesia memiliki hutan tropis yang kaya akan sumber daya alam. Hutan yang terbentang di belasan ribu pulau yang ditumbuhi berbagai jenis flora, kadang tidak dapat dijumpai di bagian bumi lainnya (Mustafa, 2020). Keanekaragaman flora yang berlimpah tersebut berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai tanaman obat, inseksitida alami serta menghasilkan minyak dan makanan (Cahyadi, 2009). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.). Kebiul telah banyak dikenal dan dimanfaatkan secara luas oleh masyarakat Indonesia. Tanaman ini tumbuh secara liar, baik di perkebunan rakyat maupun di hutan dan banyak ditemukan di daerah Bengkulu tepatnya di Kabupaten Bengkulu Selatan. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman kebiul yaitu tanin, alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid (Kusrahman, 2012).

Masyarakat Bengkulu Selatan biasanya memanfaatkan biji kebiul sebagai obat untuk penyakit kencing manis, batu ginjal dan malaria yang dikonsumsi langsung dengan cara disangrai sampai gosong atau mutung lalu dipecahkan untuk diambil daging bijinya kemudian dikonsumsi secara langsung, cara seperti ini membuat kulit bijinya terbuang sia-sia (Regina, 2018). Menurut (Dayanand, 2012) kulit biji kebiul mempunyai aktivitas antiinflamasi, analgesik, antibakteri dan antimikroba, sangat disayangkan jika kulit biji

kebiul tidak dimanfaatkan dengan baik.

Kulit biji kebiul masih jarang dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia, karena belum banyak penelitian dan informasi mengenai kandungan dan khasiatnya, maka perlu ada informasi ilmiah tentang khasiat dan efek samping yang dihasilkan oleh kulit biji kebiul. Untuk keamanan pemanfaatan kulit biji kebiul maka perlu dilakukan uji toksisitas kulit biji kebiul. Uji toksisitas terhadap ekstrak tanaman biasanya dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu ekstrak dan salah satu prasyarat suatu tanaman dapat dikembangkan sebagai obat dan produk lainnya. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* dengan larva *Artemia salina* Leach. sebagai hewan ujinya (Cahyadi, 2009). Metode ini sering digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tanaman, karena relatif murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya serta merupakan skrining awal obat anti kanker (Jazilah, 2014).

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* adalah metode awal yang dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu ekstrak. Aktivitas toksik diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salina* karena pengaruh ekstrak dengan konsentrasi yang diberikan. Jika nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak atau senyawa yang diuji <1000 ppm maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologik, sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai skrining awal

terhadap senyawa bioaktif yang terdapat dalam kulit biji yang diduga berkhasiat sebagai antikanker.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah toples kaca, toples plastik, palu, blender, gelas kimia, micropipet, microtip, gelas ukur, pipet tetes, pipet ukur, bola hisap pipet, spatula, batang pengaduk, corong pisah, statif, klem, tabung reaksi, penjepit, rak tabung reaksi, labu ukur, vial, label, plastik wrap, neraca analitik, *rotary evaporator*, aerator dan lampu untuk penetasan larva udang *Artemia salina*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.), aquades, etanol, n-heksana, kertas saring, garam biru, telur *artemia salina*, besi (III) klorida, asam klorida, serbuk magnesium, asam sulfat, kloroform, dimetil sulfoksida, pereaksi *dragendorff* dan pereaksi *Lieberman Burchard*.

### Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Buah kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) dikupas lalu diambil bijinya, dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari. biji kebiul dan daging biji kebiul dipisahkan, kemudian kulit biji kebiul dihaluskan menggunakan ayakan 60 mesh. Sebanyak 230,93 g kulit biji kebiul dalam 3 liter etanol 96% diekstraksi selama 3x24 jam dalam suhu ruangan, filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C Ekstrak etanol kental kulit biji kebiul difraksinasi dengan etanol dan n-heksana (1:1). Fraksi n-heksana dan fraksi etanol yang didapat diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C diperoleh fraksi n-heksana dan fraksi etanol kemudian dihitung rendemennya dengan rumus 
$$= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\%$$
 dan diuji aktivitas sitoksiknya.

## Skrining Fitokimia

### Analisis alkaloid

Disiapkan ekstrak kulit biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) dan diambil beberapa tetes kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pada sampel tersebut ditambahkan 2 tetes pereaksi *dragendorff*. Perubahan yang terjadi diamati setelah 30 menit, hasil uji dinyatakan positif apabila dengan pereaksi terbentuk larutan berwarna jingga dengan endapan coklat (Putri,2012).

### Analisis Tanin

Disiapkan ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Perubahan warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin (Putri,2012).

### Analisis Flavonoid

Disiapkan ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan pada sampel berupa serbuk Magnesium 2 mg dan diberikan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok selama 10 detik dan diamati perubahan yang terjadi, terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada larutan menunjukkan adanya flavonoid (Putri,2012).

### Analisis Saponin

Disiapkan ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Air panas ditambahkan pada sampel. Perubahan yang terjadi terhadap terbentuknya busa diamati, reaksi positif jika busa stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N (Putri, 2012).

### Analisis Terpenoid

Disiapkan ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan 2 tetes larutan kloroform, 3 tetes pereaksi *Lieberman Burchard*, kemudian ditambahkan 3 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Perubahan pada sampel diamati, reaksi positif jika terbentuknya warna merah kecoklatan (Putri,2012).

### Analisis Steroid

Sampel ditambahkan 2 tetes larutan kloroform, 3 tetes pereaksi *Lieberman Burchard*, kemudian ditambahkan 3 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Perubahan pada sampel diamati, terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukkan reaksi positif (Putri, 2012).

### Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Gelas kimia 1000 mL disiapkan sebagai tempat penetasan larva *Artemia salina* Leach. Dimasukkan 1 L aquadest dan ditambahkan garam laut ± 30 gram, kemudian diaerasi menggunakan aerator selama 10 jam dan dimasukkan telur *Artemia salina* Leach. Wadah yang berisi telur diberi cahaya lampu untuk

menghangatkan dan merangsang proses penetasan telur selama 48 jam (Vitalia, 2018).

Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 0,05 gram. Kemudian ditempatkan pada labu takar 25 mL. Selanjutnya masing-masing ekstrak ditambahkan dengan DMSO 1 mL dan ditambahkan air laut buatan untuk melarutkan. Setelah homogen dicukupkan sampai 25 mL dengan air laut buatan kemudian digunakan sebagai larutan stok dengan konsentrasi 2000 ppm. Dari larutan stok tersebut dibuat variasi konsentrasi di dalam vial 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm (Vitalia, 2018).

Pada masing-masing vial dimasukkan 10 ekor larva udang yang berumur 48 jam diambil dengan menggunakan mikropipet ukuran 200 µL dan ditambahkan larutan uji sebanyak 200 µL. Vial-vial uji kemudian disimpan di tempat yang cukup mendapatkan sinar lampu. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang mati. Untuk setiap sampel kontrol dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Bila  $LC_{50}$  di bawah 1000 ppm dinyatakan bersifat toksik dan diatas 1000 ppm dinyatakan tidak toksik (Vitalia, 2018).

### Menghitung Persen Kematian Larva

Menghitung persen kematian larva setelah 24 jam perlakuan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

#### Perhitungan $LC_{50}$

Persamaan garis linear:  $Y = ax + b$

Keterangan:

Y = Persentase respon kematian dalam satuan probit

x = Log – konsentrasi ekstrak

a = Intersep

b = Slope

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kulit biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) dikeringkan untuk menghilangkan kadar air, mencegah pembusukan yang diakibatkan oleh bakteri dan jamur, sehingga sampel yang dikeringkan mempunyai waktu simpan lebih lama. Pada tahap ekstraksi digunakan metode maserasi dengan etanol 96% selama 3x24 jam. Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut dikarenakan etanol memiliki gugus hidroksil yang dapat menembus membran sel untuk menarik senyawa aktif (metabolit sekunder) pada tanaman (Tagari, 2016). Fraksinasi

ekstrak kulit biji kebiul menggunakan metode ekstraksi cair-cair (corong pisah) dengan menggunakan 2 pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu etanol (polar) dan n-heksan (non-polar). Adapun hasil rendemen kulit biji kebiul dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Data hasil pengukuran rendemen kulit biji kebiul

Sampel	Berat simplisia (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)	Warna Ekstrak
Kulit biji kebiul	230,93	27,17	11,76	Coklat
Fraksi Etanol	5,02	4,02	80,07	Coklat - Kemerahan
Fraksi n-heksana	5,02	0,58	11,55	Kuning

Penetapan nilai rendemen bertujuan untuk mengetahui nilai kuantitas dari suatu ekstrak senyawa bahan alam. Nilai rendemen berkaitan dengan banyak kandungan senyawa bioaktif yang terdapat di dalam sampel. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik ada pada suatu tanaman (Putri, 2012). Pada rendemen kulit biji kebiul fraksi etanol menunjukkan nilai paling tinggi yaitu 80,07% ini menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam kulit biji kebiul banyak mengandung senyawa yang bersifat polar dan sisanya pada fraksi n-heksana yaitu 11,55% yang mengandung senyawa yang bersifat non polar.

### Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung di dalam suatu ekstrak (Putri, 2012). Berikut hasil skrining fitokimia ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Kulit Biji Kebiul

Golongan Senyawa	Ekstrak	Fraksi Etanol	Fraksi n-heksana	Warna Positif
Alkaloid	(+) (kuning jingga, endapan coklat)	(+) (kuning jingga, endapan coklat)	(+) (kuning jingga, endapan coklat)	jingga dan endapan coklat
Tanin	(+) (Biru kehitaman)	(+) (Biru kehitaman)	(-) (Kuning)	biru tua atau hitam kehijauan
Flavonoid	(+) (Jingga)	(+) (Jingga)	(+) (Jingga)	merah, kuning atau jingga
Saponin	(+) (timbul busa)	(+) (timbul busa)	(-) (Tidak timbul busa)	Timbul busa
Steroid	(+) (Hijau kebiruan)	(+) (Hijau kebiruan)	(+) (Hijau kebiruan)	hijau kebiruan
Terpenoid	(+) (Coklat kemerahan)	(+) (Coklat kemerahan)	(-) (Kuning)	merah kecoklatan

Keterangan : (+) Uji positif; (-) Uji negatif

Menurut Yani *et al.* (2021) hasil fitokimia ekstrak metanol kulit biji kebiul dengan asal sampel yang sama positif mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Senyawa metabolit sekunder suatu tanaman sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti cahaya, suhu, air tanah, kesuburan dan salinitas tanah (Diastuti, 2018).

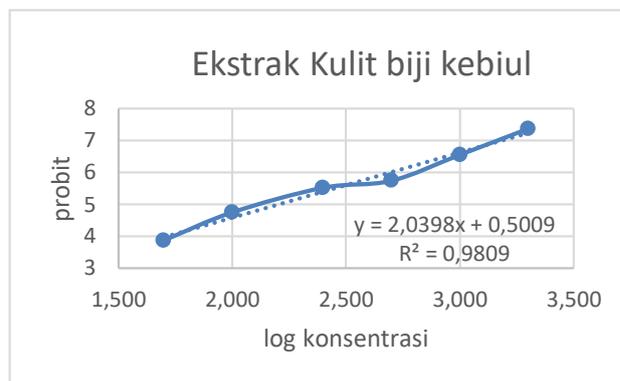
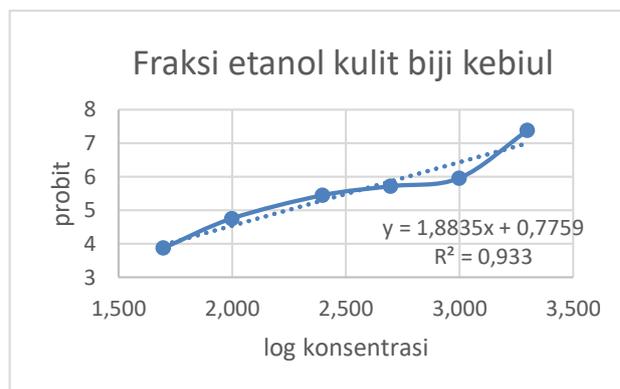
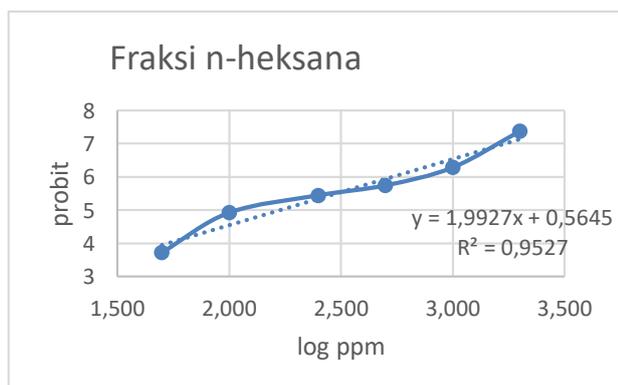
**Uji Toksisitas**

Penelitian ini menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach yang berumur 48 jam. Pemilihan usia larva tersebut karena larva memiliki saluran pencernaan yang sudah terbentuk lengkap sehingga sensitif terhadap suatu zat yang dimasukkan (Wulandari, 2014). Proses penetasan telur udang menjadi larva membutuhkan aerasi menggunakan aerator sebagai sumber oksigen bagi larva *Artemia salina* Leach. Selain itu dilakukan pencahayaan menggunakan lampu pada proses penetasan yang bertujuan untuk membuat larva bergerak menuju ruang terang karena larva bersifat fototaksis.

Tabel 3. Data uji toksisitas kulit biji kebiul

No	Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva uji	Jumlah larva mati			Persen kematian larva		
			Ekstrak	Fraksi etanol	Fraksi n-heksana	Ekstrak	Fraksi etanol	Fraksi n-heksana
1	0	30	0	0	0	0%	0%	0%
2	50	30	4	4	3	13%	13%	10%
3	100	30	12	12	14	40%	40%	47%
4	250	30	21	20	20	70%	67%	67%
5	500	30	23	23	23	77%	77%	77%
6	1000	30	28	25	27	93%	83%	90%
7	2000	30	30	30	30	100%	100%	100%

Tabel 3. memperlihatkan bahwa persentasi kematian larva *Artemia salina* Leach pada masing-masing sampel mengalami peningkatan, semakin tinggi konsentrasi maka tingkat kematian larva *Artemia salina* Leach juga semakin tinggi, yang artinya toksisitas sampel semakin besar (semakin toksik) (Muaja, 2013).



Gambar 1. Grafik nilai regresi linear ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana ekstrak kulit biji kebiul

Pada konsentrasi 0 ppm kematian larva adalah nol, ini menandakan tidak adanya efek dari pemindahan larva pada saat pengujian melainkan kematian larva hanya dipengaruhi oleh senyawa bioaktif (metabolit sekunder) pada ekstrak kulit biji kebiul. Pada konsentrasi 250 ppm persentasi kematian larva telah mencapai >50% Pada konsentrasi 2000 ppm kematian larva sudah mencapai 100%. Dari data tersebut menunjukkan efektivitas uji toksisitas pada kulit biji kebiul adalah pada konsentrasi 250 ppm – 2000 ppm.

**Perhitungan  $LC_{50}$**

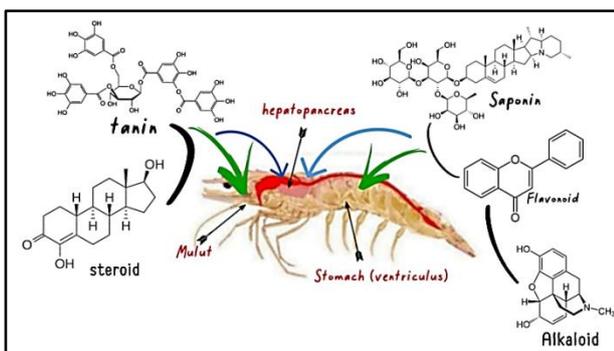
Perhitungan nilai  $LC_{50}$  bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksisitas dari ekstrak tanaman atau senyawa bahan alam. Aktivitas toksik dapat dilihat dari jumlah kematian larva *Artemia salina* yang dipengaruhi oleh adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak tanaman atau bahan alam (Wulandari, 2014). Berikut adalah data  $LC_{50}$  ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana:

Tabel 4. Nilai  $LC_{50}$  ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul

No	Sampel	Nilai $LC_{50}$
1	Ekstrak	160,567 ppm
2	Fraksi Etanol	174,858 ppm
3	Fraksi N-Heksana	168,219 ppm

Berdasarkan uji toksisitas ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul mendapatkan hasil  $LC_{50}$  sebesar 160.567 ppm untuk ekstrak kulit biji kebiul, 174.858 ppm untuk fraksi etanol kulit biji kebiul dan 168.219 ppm untuk fraksi n-heksana. Dari ke 3 perhitungan  $LC_{50}$  itu menunjukkan bahwa ketiga larutan yang diujikan ke larva udang *Artemia salina* Leach memiliki sifat toksik karena  $LC_{50}$  nya menunjukkan nilai  $<1000$  ppm. Menurut Mayer (1982) nilai  $LC_{50}$  yang dikatakan sangat toksik bila  $\leq 30$  ppm, nilai  $LC_{50}$  antara 30-100 ppm dikategorikan toksik dan nilai  $LC_{50}$  antara 100-1000 ppm termasuk toksik rendah.

Syarat suatu senyawa dapat dikembangkan menjadi obat antikanker adalah jika senyawa tersebut memiliki nilai  $LC_{50} <1000$  ppm, ini menunjukkan bahwa kulit biji kebiul berpotensi dikembangkan menjadi obat antikanker karena memiliki nilai  $LC_{50} <1000$  ppm. Beberapa kandungan metabolit sekunder pada kulit biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) yang kemungkinan bersifat toksik yaitu saponin, tanin dan flavonoid (Muaja, 2013). Gambar penyerangan senyawa metabolit sekunder pada larva *Artemia salina* Leach dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Penyerangan senyawa metabolit sekunder pada larva *Artemia salina* Leach

Mekanisme kematian larva diperkirakan berhubungan dengan fungsi senyawa alkaloid, steroid, flavonoid, saponin dan tanin yang berperan dalam kematian larva *Artemia salina* Leach dengan cara menghambat daya makan larva (*antifeedant*)

*Uji Toksisitas Ekstrak dan Fraksi Kulit Biji Kebiul (Caesalpinia Bonduc L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Muhammad Hernanda, Dwi Fitri Yani, dan Fitria Wijayanti)*

(Wulandari, 2014). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Senyawa ini akan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa, tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Menurut Mukti (2012) flavonoid, alkaloid dan steroid dapat menghambat saluran pencernaan serangga dan juga bersifat toksik. Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan dan penyerap makan pada serangga; tanin dapat menghambat serangga dalam mencerna makanan dan menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva (Fadli, 2019). Dari data yang diperoleh, ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul memiliki efek toksik dengan nilai  $LC_{50} <1000$  ppm dan senyawa yang bersifat toksik yaitu alkaloid, steroid, flavonoid, saponin dan tanin melalui mekanisme mengganggu proses pencernaan larva dimana senyawa-senyawa dapat menghambat aktivitas enzim protease, lipase, amilase dan invertase pada pencernaan dan penyerap makanan larva.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji toksisitas ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) dapat disimpulkan bahwa: aktivitas toksisitas dari ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul memiliki sifat toksik yang berpotensi dimanfaatkan sebagai antikanker. Nilai  $LC_{50}$  ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul 160,567 ppm untuk ekstrak kulit biji kebiul, 174,858 ppm untuk fraksi etanol dan 168,219 ppm untuk fraksi n-heksana yang mengandung arti bahwa ekstrak, fraksi etanol dan fraksi n-heksana kulit biji kebiul memiliki rentang 100-1000 ppm yang tergolong toksik.

## DAFTAR PUSTAKA

Cahyadi, Robby. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica Charantia* L.) terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

- Dayanand, M. Kannur. 2012. Evaluation of *Caesalpinia Bonduc* seed coat extract for anti-inflammatory and analgesic activity. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. 3(3):4
- Fadli 2019. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode Bslt (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Medical Sains* . 4(1):35-42
- Jazilah, Nur. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kusrahman, Asep. 2012, „Isolasi, karakterisasi senyawa aktif dan uji farmaka ekstrak biji kebiul pada mencit (*Mus musculus*) serta penerapannya dalam pembelajaran kimia di SMAN 1 Bengkulu Selatan“, *Tesis*, M.Pd.Si, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Bengkulu, Bengkulu, Indonesia.
- Mayer BN. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*. 45(05)
- Muaja, Arter D. 2013. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauibracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE*. (2) 115-118
- Mukti K.. 2012. Uji Fitokimia Dan Toksisitas Ekstrak Kasar Gastropoda (*Telescopium telescopium*) Terhadap Larva *Artemia salina*. *Journal Of Marine Research*. 1(2):58-66
- Mustafa, Moh. Adam. 2020. Standarisasi Parameter Spesifik Ekstrak Metanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) Sebagai Bahan Baku Obat Herbal Terstandar. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. Volume 2(1):49-58
- Regina, Florencia. 2018. Uji Aktivitas Antipiretik Ekstrak Biji Kebiul (*Caesalpinia Bondul* (L.) Roxb.) Terhadap Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Vaksin Dpt-Hb. *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya. 81
- Tagari, Rangga. 2016. Uji efektifitas larvasida ekstrak daun pepaya (*carica papaya linn*) terhadap larva *aedes aegypti*. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Palembang.
- Wulandari, Febi. 2014. Uji toksisitas akut ekstrak metanol daun mahkota dewa (*phaleria mavrocarpa* [Scheff.] Boerl.) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode brine shrimp lethality test (BSLT). *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Vitalia, Nurhawa. 2018. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pletekan (*Ruellia Tuberosa* L.) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(1): 146-152
- Yani, Dwi Fitri dan Dirmansyah, Rio. 2021. Uji Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Metanol Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc* L.) Secara *IN VITRO*. *Skripsi*. UIN Raden Fatah Palembang.