

Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Ziza Putri Aisyia Fauzi*, Ridwanto Ridwanto, Zulmai Rani, Khairil Fikri Arifin

Program Studi, Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Wasliyah Medan, Indonesia
Email: ^{1,*}zizafauzi43@gmail.com, ²rid.fillah66@gmail.com, ³zulmairani22@gmail.com, ⁴khairilfikriarifin@gmail.com

Email Penulis Korespondensi: zizafauzi43@gmail.com

(*: coresponding author)

Abstrak—Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit yang bersifat kronis yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata atau bersifat akumulatif. Salah satu kemungkinan yang dapat terjadi sebagai akibat kerja radikal bebas seperti kanker. Kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular yang menjadi masalah kesehatan masyarakat, baik di dunia maupun di Indonesia. Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antikanker adalah tanaman bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.). Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun bayam duri mengandung antioksidan yang tergolong kuat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun bayam duri dan daya sitotoksitas ekstrak etanol daun bayam duri dengan melihat nilai LC_{50} yang diujikan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini meliputi skrining fitokimia ekstrak daun bayam duri dan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan melihat jumlah kematian larva *Artemia salina leach* (LC_{50}). Hasil pengujian skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun bayam duri positif mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, steroid dan glikosida. Hasil uji sitotoksitas dengan analisis probit menunjukkan nilai LC_{50} yaitu 269,15 μ g/mL sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker.

Keywords: Daun Bayam Duri; BSLT; Radikal Bebas; Sitotoksitas

Abstract—Free radicals can cause chronic disease, it takes years for the disease to become real or accumulative. One possibility that can occur as a result of the work of free radicals such as cancer. Cancer is one of the non-communicable diseases that is a public health problem, both in the world and in Indonesia. One of the plants that has the potential as an anticancer is *Amaranthus spinosus* L. The results showed that thorn spinach leaves contain strong antioxidants. This study aims to determine the class of secondary metabolites contained in the ethanolic extract of thorn spinach leaves and the cytotoxicity of the ethanolic extract of *A. spinosus* by looking at the LC_{50} value which was tested using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. This research includes phytochemical screening of *A. spinosus* extract and *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method by looking at the number of larvae mortality of *Artemia salina leach* (LC_{50}). The results of the phytochemical screening test showed that *A. spinosus* were positive for flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, steroids and glycosides. The results of the cytotoxicity test using probit analysis showed an LC_{50} value of 269.15 g/mL, so it can be concluded that the ethanolic extract of *A. spinosus* is toxic and has potential as an anticancer.

Keywords: *Amaranthus spinosus* L; BSLT; Free Radicals; Cytotoxicity

1. PENDAHULUAN

Pada era modern dengan perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan saat ini, terjadi perubahan pola hidup masyarakat yang berdampak buruk bagi kesehatan. Sehingga menyebabkan adanya penurunan produksi senyawa yang menjaga kondisi tubuh, yaitu antioksidan alami yang digunakan untuk menetralisir radikal bebas (Arnanda & Nuwarda, 2019). Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultra violet, zat kimiawi dalam makanan dan polutan lain. Tubuh manusia dapat menetralisir radikal bebas bila jumlahnya tidak berlebihan. Berbagai tanaman yang ada di Indonesia dan lazim dikonsumsi ternyata ada yang mengandung antioksidan (Nurmazela et al., 2022). Radikal bebas dapat menyebabkan penyakit yang bersifat kronis yaitu dibutuhkan waktu bertahun-tahun untuk penyakit tersebut menjadi nyata atau bersifat akumulatif. Berbagai kemungkinan yang dapat terjadi sebagai akibat kerja radikal bebas seperti gangguan fungsi sel, kerusakan struktur sel, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker (Rani, 2021).

Kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular yang menjadi masalah kesehatan masyarakat, baik di dunia maupun di Indonesia. Ironisnya, kasus kanker ini akan terjadi lebih cepat di negara miskin dan berkembang. Meskipun kemajuan signifikan dalam berbagai pengobatan/tindakan antikanker telah dikumpulkan selama bertahun-tahun, namun masih terdapat banyak aspek yang perlu disempurnakan (Rani et al., 2022). Dalam perkembangan dibidang kesehatan telah ditemukan obat-obat antikanker dan dilakukan kemoterapi, namun obat antikanker yang telah ada umumnya selain memiliki khasiat antikanker, obat tersebut juga bersifat merusak sel-sel yang normal serta faktor biaya yang mahal juga menjadi kendala. Hal ini mendorong masyarakat untuk melakukan pengobatan menggunakan bahan alam atau obat tradisional. Senyawa aktif tanaman herbal merupakan salah satu alternatif dalam pencarian antikanker baru karena dipercaya memiliki efek samping minimal. Antikanker dari tanaman herbal dapat berupa ekstrak tanaman atau senyawa aktif tunggal yang diisolasi dari tanaman (Zafriah & Amalia, 2018). Senyawa-senyawa metabolit sekunder banyak digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antipiretik serta antimikroba terutama untuk golongan senyawa fenolik, flavonoid dan alkaloid (Hasim et al., 2019). Senyawa-senyawa ini diketahui juga memiliki aktifitas yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh sel kanker atau sebagai antikanker. Senyawa-senyawa toksik yang dapat

membunuh sel kanker tersebar di berbagai tanaman. Salah satu tanaman yang berpotensi adalah tanaman kakao (Nabila & Fitrianiingsih, 2023). Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antikanker adalah tanaman bayam duri.

Bayam duri adalah tanaman bercabang banyak dengan daun yang halus dan berbulu, kadang-kadang mengkilap sedangkan batangnya memanjang berwarna hijau kecoklatan. Bayam duri dapat tumbuh dengan mudah, baik di lahan kering maupun basah, namun tanaman ini tumbuh lebih baik pada tanah yang memiliki kelembaban rendah. Salah satu manfaat bagi kesehatan yang terdapat dalam bayam duri yaitu dapat menangkal radikal bebas. Seperti kita ketahui, radikal bebas bertanggung jawab atas pembentukan sel-sel kanker ganas (Purnomo, 2023). Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun bayam duri mengandung antioksidan yang tergolong kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 76,66 $\mu\text{g/mL}$ serta mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid dan triterpenoid. Senyawa flavonoid dan alkaloid dikatakan terbukti toksik sebagai antikanker (Fatmawati, 2019). Peranan antioksidan sangat penting dalam meredam efek radikal bebas yang berkaitan erat dengan terjadinya penyakit degeneratif yang didasari oleh proses biokimia dalam tubuh. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengikat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Ratu & Mugiyo, 2018).

Adapun cara untuk mengetahui suatu tumbuhan memiliki kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker adalah dengan melakukan penelitian awal. Penelitian ini dilakukan sebagai indikator awal dalam pengujian sitotoksik. Mayer mengemukakan juga bahwa salah satu metode awal untuk uji sitotoksik adalah *Brine Lethality Test* (BSLT) (Puspitasari & Rozirwan, 2018). Uji toksisitas yang dilakukan dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) ditujukan untuk menentukan potensi suatu senyawa bersifat racun dengan mengetahui tingkat toksisitasnya (Ridwanto, Saragih, et al., 2023). *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk uji sitotoksitas / skrining senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman menggunakan larva *Artemia salina* leach sebagai hewan uji (Ridwanto, Pratiwi, et al., 2023). Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Metode ini mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat. Larva *Artemia salina* leach dianggap mewakili organisme zoologis untuk uji kematian secara in vivo (F. A.-U. Nasution et al., 2023). Uji BSLT dilakukan dengan mengamati tingkat kematian yang ditimbulkan setelah diberi ekstrak terhadap larva udang jenis *Artemia salina* leach setelah diinkubasi selama 1x24 jam. Hasil yang diperoleh kemudian dihitung sebagai nilai LC_{50} (*lethal concentration*) ekstrak, dimana konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian *Artemia salina* leach sebanyak 50% (Chusniasih & Tutik, 2020). Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui adanya efek toksik dalam penggunaan suatu senyawa. Uji toksisitas merupakan uji untuk mengetahui kemampuan racun yang dapat menimbulkan kerusakan ketika masuk ke dalam tubuh dan organ yang rentang terhadapnya (Sepvina et al., 2022). Berdasarkan uraian di atas penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai daun bayam duri sebagai bahan alam yang potensial untuk dikembangkan sebagai agen antikanker dengan menguji sitotoksitas ekstrak daun bayam duri menggunakan metode BSLT.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental yaitu berupa pengambilan dan pengeringan daun bayam duri, karakterisasi simplisia daun bayam duri, ekstraksi simplisia daun bayam duri, skrining fitokimia ekstrak bayam duri dan uji sitotoksitas. Pengujian sitotoksitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva udang *Artemia salina* leach.

2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, lemari pengering, aluminium foil, mikroskop, blender, *rotary evaporator*, tanur, cawan penguap, desikator, wadah maserasi, vial, bejana penetasan telur *Artemia salina* leach, alat-alat gelas laboratorium.

2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.), telur *Artemia salina* leach, garam laut, aquadest, etanol 96%, asam asetat anhidrat, bismut nitrat, asam sulfat pekat, kloroform, toluen, raksa (II) klorida, timbal (II) asetat, besi (III) klorida, serbuk magnesium, kloral hidrat, natrium hidroksida, asam klorida pekat, iodium, alfa naftol, kalium iodida, asam nitrat dan eter.

2.3 Determinasi sampel

Determinasi/Identifikasi pada tumbuhan dilakukan di Herbarium Medanense Universitas Sumatera Utara.

2.4 Pengumpulan sampel

Pengumpulan sampel daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) di ambil di sekitar daerah Kecamatan Medan Amplas, Medan Kota, Provinsi Sumatera Utara. Proses pengumpulan daun bayam duri dilakukan secara *purposive* sampling yaitu tanpa membandingkan dengan tumbuhan yang sama dari daerah lain.

2.5 Pengolahan sampel

Sampel daun bayam duri (*Amarantus spinosus* L.) yang telah dikumpulkan, disortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan sampel dari kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya yang ikut dalam pengumpulan sampel. Sampel dicuci dengan air yang mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan tanah dan benda asing lainnya yang melekat dan ditiriskan dan kemudian dirajang halus (Syahputra et al., 2021). Sampel selanjutnya dimasukkan kedalam lemari pengering dengan suhu 40-50°C. Proses pengeringan dilakukan sampai bahan baku mudah dipatahkan. Lalu disortasi kering untuk memisahkan simplisia dari benda-benda asing yang ikut dalam proses pengeringan. Kemudian simplisia diserbukkan dengan menggunakan blender, diayak dan ditimbang. Serbuk simplisia yang diperoleh disimpan dalam satu wadah bersih yang tertutup rapat dan disimpan pada suhu kamar dan terlindung cahaya (Pulungan et al., 2022).

2.6 Karakterisasi Simplisia

Pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi: pemeriksaan makroskopik simplisia, pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam.

2.6.1 Pemeriksaan Makroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan cara memperhatikan bentuk, warna, rasa dan bau terhadap simplisia daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) (Rafita et al., 2022).

2.6.2 Pemeriksaan Mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) dengan cara serbuk simplisia ditaburkan di atas objek glass yang telah ditetesi dengan kloral hidrat sebanyak 1 tetes dan ditutup dengan *deck glass*, kemudian diamati di bawah mikroskop (H. M. Nasution et al., 2022).

2.6.3 Penetapan Kadar Air

Kedalam labu alas bulat dimasukkan 200 ml toluen dan 2 ml air suling, lalu didestilasi selama 2 jam, biarkan mendingin selama 30 menit didinginkan dan volume air dalam tabung penampung dibaca. Selanjutnya ke dalam labu dimasukkan 5 g serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama, lalu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mulai mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes tiap detik hingga sebagian air tersuling, kemudian kecepatan penyulingan dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendinginan dibilas dengan toluen. Destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin sampai suhu kamar, setelah air dan toluen memisah sempurna volume dibaca dengan ketelitian 0,05 ml. selisih kedua volume air yang dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiksa. Kadar air dihitung dalam persen (Robiatun et al., 2022).

2.6.4 Penetapan Kadar Sari Yang Larut Dalam Air

Ditimbang 5 g serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml air kloroform (2,5 kloroform dalam air suling sampai 1 liter) dalam labu bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam kemudian disaring, sejumlah 20 ml filtrat pertama diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang berdasar rata yang telah dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar dalam persen sari yang larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Rani et al., 2023).

2.6.5 Penetapan Kadar Sari Yang Larut Dalam Etanol

Ditimbang 5 g serbuk simplisia yang telah dikeringkan di udara dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat sambil dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Selanjutnya disaring, 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara dan sisanya dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar sari larut dalam etanol dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (F. A.-U. Nasution et al., 2023).

2.6.6 Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 2 g serbuk simplisia yang ditimbang seksama, dimasukkan ke dalam kurs porselin yang telah dipijar dan ditara. Kurs dipijar pada suhu 600°C sampai arang habis, dinginkan dan ditimbang sampai diperoleh bobot tetap, kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Septiana et al., 2024).

2.6.7 Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Dalam Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total ditambahkan dengan 25 ml asam klorida encer dan dididihkan selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, kemudian dicuci dengan air panas. Residu dan kertas saring dipijarkan pada suhu 600°C sampai bobot tetap, kemudian didinginkan dan

ditimbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Ridwanto, Trizaldi, et al., 2023).

2.7 Pembuatan Ekstrak

Prosedur ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan cara menimbang 500 gram serbuk simplisia daun bayam duri dimasukkan ke dalam bejana, kemudian dituangkan dengan 75 bagian (3750 ml) cairan penyari etanol lalu diaduk-aduk sesekali. Setelah 5 hari campuran diserkai dan ampasnya diperas. Dicuci ampasnya dengan cairan penyari etanol secukupnya hingga diperoleh 100 bagian (5000 ml) maserat. Lalu dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan di tempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari dan disaring. Maserat dipekatkan dengan alat rotary evaporator pada temperatur tidak lebih dari 70°C dan diperoleh ekstrak kental (H. M. Nasution et al., 2024).

2.8 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid/triterpenoid.

2.8.1 Pemeriksaan Alkaloid

Serbuk simplisia dan ekstrak ditimbang 0,5 g ditambahkan 1 ml HCl 2 N ditambahkan 9 ml air suling, lalu dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring filtrat dipakai untuk pemeriksaan alkaloid. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff akan terbentuk coklat atau jingga. Jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit 2 tabung reaksi pada percobaan di atas, maka alkaloid positif (Suryani et al., 2024).

2.8.2 Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 10 g simplisia dan ekstrak daun bayam duri ditimbang, kemudian ditambahkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol lalu dikocok kemudian dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan alcohol (Nasri et al., 2024).

2.8.3 Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 0,5 g simplisia dan ekstrak daun bayam duri dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml akuades, dikocok dan di saring. Filtrat diencerkan dengan akuades sampai tidak berwarna. Larutan di ambil 2 ml ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Nasri et al., 2023).

2.8.4 Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0,5 g simplisia dan ekstrak daun bayam duri dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan kocok selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak berkurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Rambe et al., 2021).

2.8.5 Pemeriksaan Steroida/Triterpenoida

Sebanyak 1 g simplisia dan ekstrak daun bayam duri di maserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam, lalu disaring. Filtrat di uapkan dalam cawan penguap kemudian ditambahkan 5 tetes asam asetat anhidrat dan 5 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Liberman-Burchardad). Terbentuknya warna ungu sampai merah ungu menunjukkan adanya triterpenoid dan terbentuknya warna biru hijau menunjukkan adanya steroid (Kaban et al., 2022).

2.8.6 Pemeriksaan Glikosida

Sampel simplisia dan ekstrak daun bayam duri ditimbang sebanyak 3 g lalu ditambahkan dengan 10 ml campuran etanol 95 % dan akuades (7:3) dan 10 ml asam klorida 2 N, direfluks selama 10 menit, didinginkan dan disaring. Ambil 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml akuades dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M dikocok, diamkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam corong pisah dan disari dengan 20 ml campuran isopropanol dan kloroform (2:3) sebanyak 3 kali. Lapisan air dan lapisan campuran isopropanol-kloroform dipisahkan dan masing-masing ditambah natrium sulfat anhidrat, disaring dan diuapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C. Residu dilarutkan dalam 2 ml metanol dan digunakan untuk percobaan berikut : Filtrat dari lapisan air (komponen gula) sebanyak 0,1 ml di dalam tabung reaksi diuapkan diatas penangas air, ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes pereaksi molish. Ditambahkan asam sulfat pekat perlahan lahan melalui dinding tabung, terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya komponen gula (glikon). Filtrat dari lapisan campuran kloroform-isopropanol (komponen non-gula) sebanyak 0,1 ml ditambah 5 ml asam

asetat anhidrat dan 10 tetes asam sulfat pekat terjadi warna biru atau hijau (reaksi Liberman-Bourchard) menunjukkan adanya komponen non-gula (aglikon) (Syahputra et al., 2023).

2.9 Pengujian Sitotoksitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

2.9.1 Pembuatan Air Laut Buatan

Air laut buatan dibuat dengan cara melarutkan 38 gram garam tanpa iodium dalam 1 liter air, lalu diaduk sampai homogen. Kemudian disaring dengan kertas Whatman (Rani et al., 2022).

2.9.2 Penetasan Telur *Artemia Salina* Leach

Penetasan telur dilakukan dalam wadah bening yang berisi media air laut buatan. Wadah yang digunakan dibagi menjadi dua bagian oleh sekat berlubang, yaitu bagian gelap dan bagian terang. Sekat berlubang menjadi jalan untuk larva yang telah menetas untuk bergerak secara alamiah ke arah terang. Kemudian pada bagian gelap dimasukkan satu sendok telur. Pada wadah bagian gelap ditutup dengan alumunium foil atau lakban hitam. Pada wadah bagian terang diberi penerangan dengan cahaya lampu agar suhu penetasan 25-30°C tetap terjaga. Telur udang dibiarkan terendam selama 48 jam sampai telur menetas. Telur akan menetas dalam waktu 24-36 jam dan akan bergerak secara alamiah menuju daerah terang sehingga larva udang terpisahkan dari bagian telur atau kulit telur. Larva yang telah aktif bergerak siap digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian (Fadli et al., 2019).

2.9.3 Pembuatan Larutan Konsentrasi

Larutan ekstrak etanol daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) dibuat menjadi 10 konsentrasi untuk terlebih dahulu digunakan sebagai orientasi, yaitu konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, dan 500 µg/ml dan 1 tabung digunakan untuk blanko (Panggabean et al., 2020).

2.9.4 Uji Sitotoksitas Ekstrak Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.)

Disiapkan vial yang sudah berisi larutan konsentrasi ekstrak sesuai tingkat konsentrasi masing-masing dengan replikasi sebanyak 3 kali. Vial diisi dengan sampel yang telah dilarutkan dengan air laut buatan sebanyak 10 ml. Sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* leach dimasukkan ke dalam masing-masing vial. Kontrol negatif (blanko) diberi perlakuan yang sama seperti larutan uji tetapi tidak ditambahkan dengan ekstrak. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati dalam tiap vial setelah 24 jam. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi (Kurniawan & Ropiqa, 2021).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengolahan Sampel Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.)

Sampel daun bayam duri yang telah dikumpulkan didapatkan bobotnya sebanyak 6.500 gram, setelah dilakukan pengeringan dengan suhu 50oC maka diperoleh bobot simplisia sebanyak 600 gram dan hasil susut pengeringan (*loss on drying*) didapatkan sebesar 90,77%. Tujuan penentuan susut pengeringan adalah memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Hasil susut pengeringan berat simplisia tidak saja karena berkurangnya kadar air, namun juga ada beberapa zat atau senyawa lain yang hilang (menguap).

3.2 Karakterisasi Simplisia

Hasil dari karakterisasi simplisia yaitu pada pengujian makroskopis, bentuk fisik dari simplisia daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) yaitu berwarna hijau, tidak berbau dan rasa sedikit asam. Hasil uji mikroskopis pada serbuk simplisia daun bayam duri didapatkan adanya berkas pembuluh penebalan tangga, rambut penutup dan hablur kalsium oksalat bentuk roset. Hasil karakterisasi simplisia Daun Bayam Duri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Simplisia Daun Bayam Duri

No	Parameter	Hasil Pemeriksaan
1	Kadar Air	5,3 %
2	Kadar Sari Larut Air	7,50%
3	Kadar Sari Larut Etanol	2,52 %
4	Kadar Abu	5,49 %
5	Kadar Abu Larut Asam	0,62%

Pada penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan tingkat minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan. Hasil dari penetapan kadar air simplisia daun bayam duri ini diperoleh kadar presentase

sebesar 5,3 %. Kadar air dalam sampel (simplisia) tidak boleh lebih dari 10% karena kelebihan air dalam simplisia akan mendorong pertumbuhan mikroorganisme dan kapang (jamur), reaksi pembusukan, reaksi enzimatik, yang pada akhirnya diikuti oleh reaksi hidrolisis senyawa kimia dalam simplisia. Metode yang digunakan dalam penetapan kadar air yaitu metode destilasi azeotrofik. Prinsip metode destilasi ini adalah penggabungan dua buah pelarut yang memiliki titik didih berbeda serta kepolaran berbeda. Destilasi digunakan untuk memisahkan campuran yang terdiri dari dua komponen atau lebih yang sulit dipisahkan. Pelarut yang digunakan pada penetapan kadar air ini adalah toluen. Toluena memiliki berat jenis lebih rendah dari air, berat jenis toluena yaitu 0,866 g/ml. Penggunaan pelarut yang mempunyai berat jenis lebih ringan dari air bertujuan agar air berada di bagian bawah gelas penampung sehingga pengukuran volume lebih mudah. Air dan pelarut (toluena), terkondensasi sehingga terjadi pengembunan dan jatuh pada tabung berskala, ditandai dengan terbentuknya lapisan dua fasa, yaitu air dan toluena. Fasa air berada di bawah sedangkan toluena berada di atas. Air berada di bawah karena berat jenis air lebih besar dibandingkan toluena (Yuza et al., 2023).

Pada pengujian kadar sari larut dalam air serbuk simplisia daun bayam duri didapatkan persentase kadar sebesar 7,72 %, sedangkan untuk pengujian kadar sari larut dalam etanol serbuk simplisia daun bayam duri diperoleh persentase kadarnya sebesar 2,52 %. Hasil kadar yang didapatkan ini memenuhi persyaratan dimana untuk kadar sari yang larut dalam air tidak kurang dari 7% dan kadar sari yang larut dalam etanol tidak kurang dari 2,5% (Depkes, 1989). Kadar sari larut air dan etanol merupakan pengujian untuk penetapan jumlah kandungan senyawa yang dapat terlarut dalam air (kadar sari larut air) dan kandungan senyawa yang dapat terlarut dalam etanol (kadar sari larut etanol) (Ningtiyas & Rani, 2023).

Pada penentuan kadar sari larut air dan etanol, simplisia terlebih dahulu dimaserasi selama $\pm$ 24 jam dengan air dan etanol (96%). Ketika penentuan kadar sari larut air, simplisia ditambahkan kloroform terlebih dahulu, penambahan kloroform tersebut bertujuan sebagai zat antimikroba. Karena pada saat maserasi hanya digunakan air saja, mungkin ekstrak akan rusak karena air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba dan dikhawatirkan terjadi proses hidrolisis yang akan merusak ekstrak sehingga menurunkan mutu dan kualitas dari ekstrak tersebut. Sementara pada penentuan kadar sari larut etanol tidak ditambahkan kloroform, karena etanol sudah memiliki sifat antibakteri jadi tidak perlu ditambahkan kloroform. Data kadar sari dalam pelarut tertentu biasanya diperlukan untuk menentukan pelarut yang akan digunakan untuk mengekstraksi senyawa tertentu agar zat-zat yang terekstraksi lebih banyak yang terekstraksi dari simplisia yang akan diekstraksi (H. M. Nasution et al., 2022).

Pada pengujian kadar abu total serbuk simplisia daun bayam duri didapatkan persentase kadar sebesar 5,49 % dan untuk pengujian kadar abu tidak larut asam didapatkan persentase kadarnya sebesar 0,62 %. Hasil penetapan kadar abu ini masih memenuhi persyaratan dimana untuk kadar abu total tidak lebih dari 10% dan kadar abu yang tidak larut dalam asam tidak lebih dari 1% (Depkes, 1989). Penentuan kadar abu bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak. Prinsipnya ekstrak dipanaskan hingga senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai hanya unsur mineral dan anorganik saja yang tersisa. Besarnya kadar abu total dalam setiap ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi banyak mengandung mineral. Sedangkan adanya kadar abu yang tidak larut dalam asam menunjukkan adanya pasir atau pengotor lainnya yang masih ada (Indriyanti et al., 2018).

3.3 Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Daun Bayam Duri

Skrining fitokimia dilakukan untuk menguji ada tidaknya senyawa metabolit sekunder diantaranya seperti alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, tannin dan glikosida. Hasil skrining fitokimia simplisia dan ekstrak etanol daun bayam duri dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Skrining Fitokimia

No.	Pemeriksaan	Hasil Serbuk	Hasil Ekstrak
1	Alkaloid	+	+
2	Flavonoid	+	+
3	Saponin	+	+
4	Tannin	+	+
5	Steroid	-	-
6	Triterpenoid	+	+
7	Glikosida	+	+

Keterangan : (+) : mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) : tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan tabel di atas menunjukkan Pada pemeriksaan alkaloid terdapat 3 pengujian yaitu pengujian dengan pereaksi Mayer, Bouchardat dan Dragendorff. Pada pengujian pertama dengan pereaksi Mayer menunjukkan hasil yang positif karena terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning. Kemudian pengujian kedua dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil yang positif ditandai dengan terbentuknya warna jingga. Pada pengujian ketiga dengan pereaksi Bouchardat juga menunjukkan hasil yang positif karena membentuk endapan cokelat. Dari hasil yang didapatkan diatas dapat disimpulkan bahwa simplisia dan ekstrak daun bayam duri positif mengandung alkaloid. Hal ini sesuai

dengan literatur bahwasanya alkaloid dianggap positif jika terjadi endapan atau kekeruhan sedikitnya 2 reaksi dari 3 percobaan. Pada dasarnya prinsip pengujian senyawa alkaloid pada reaksi pengendapan dengan ion logam berat. Atom nitrogen (bersifat basa) yang ada pada struktur alkaloid mempunyai kemampuan untuk berinteraksi dengan ion logam. Penambahan HCl 2 N dimaksudkan untuk menarik senyawa alkaloid dalam ekstrak karena alkaloid bersifat basa maka dengan penambahan asam seperti HCl akan terbentuk garam, sehingga alkaloid akan terpisah dengan komponen-komponen lain dari sel tumbuhan yang ikut terekstrak dengan mendistribusikannya ke fase asam (Rachmawati & Suriawati, 2019).

Pada pengujian flavonoid menunjukkan hasil yang positif pada simplisia dan ekstrak daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) karena terbentuknya warna jingga pada lapisan amil alkohol. Senyawa flavonoid yang mengandung gugus hidroksil akan berinteraksi dengan ion Mg^{2+} membentuk senyawa kompleks yang berwarna. Reaksi senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium yang berwarna merah atau jingga (Yanti & Vera, 2019).

Pada pemeriksaan tannin menunjukkan hasil yang positif terhadap simplisia dan ekstrak daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.). Hal ini disebabkan karena terbentuknya senyawa kompleks antara senyawa fenolik yang mengandung gugus hidroksil (OH) dengan ion besi (III). Atom oksigen mempunyai pasangan elektron bebas sehingga bersifat reaktif terhadap ion positif membentuk senyawa kompleks (Djindadi et al., 2020).

Pemeriksaan saponin menunjukkan hasil yang positif terhadap simplisia dan ekstrak daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) karena buih yang terbentuk setelah pengocokan bertahan lama dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N. Buih terbentuk karena saponin mempunyai sifat yang dapat menurunkan tegangan permukaan air. Seperti sabun, saponin mempunyai molekul besar yang mengandung gugus hidrofilik dan lipofilik. Dalam air, molekul saponin mensejajarkan diri secara vertikal pada permukaannya, dengan gugus lipofilik menjauhi air (Sahputra et al., 2019).

Pada pengujian triterpenoid didasarkan pada kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 pekat pada pelarut asetat glasial yang membentuk warna ungu sampai merah ungu menunjukkan adanya triterpenoid dan terbentuknya warna biru hijau menunjukkan adanya steroid. Berdasarkan hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan, diketahui bahwa simplisia dan ekstrak daun bayam duri positif mengandung senyawa Triterpenoid dan negatif mengandung steroid (Djindadi et al., 2020).

Pada pemeriksaan glikosida menunjukkan hasil yang positif terhadap simplisia dan ekstrak daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) karena tidak terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan larutan sisa setelah penambahan pereaksi molisch dan asam sulfat pekat. Mekanisme terbentuknya cincin ungu berasal dari karbohidrat yang terhidrolisis oleh asam sulfat menjadi monosakarida kemudian keduanya terkondensasi membentuk furfural yang bereaksi sehingga membentuk cincin ungu (Nurbaiti, 2020).

3.4 Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L.)

Uji sitotoksisitas ini dilakukan dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menggunakan *Artemia salina* leach sebagai hewan uji. Fase artemia yang digunakan dalam penelitian ini adalah fase nauplius karena pada saat itu *Artemia salina* leach berada pada fase yang paling aktif membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis. Hal ini menyebabkan uji BSLT ini sering digunakan sebagai penelitian pendahuluan dari aktivitas antikanker. Salah satu mekanisme kerja obat antikanker juga bersifat sitotoksik yaitu dengan cara menghambat pertumbuhan sel yang akhirnya menyebabkan kematian pada sel sedangkan mekanisme aktivitas sitotoksik pada *Artemia salina* leach belum diketahui secara pasti (Sepvina et al., 2022). Metode BSLT ini merupakan metode penapisan farmakologi awal yang mudah dan tidak mahal serta tidak membutuhkan spesialisasi tertentu dalam pengerjaannya. Juga merupakan metode yang telah teruji hasilnya dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengamati toksisitas suatu senyawa di dalam ekstrak kasar tanaman (Ridwanto, Saragih, et al., 2023).



Gambar 1. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daun Bayam Duri (a) telur artemia, (b) air garam buatan, (c) proses penetasan, (d) *Artemia salina* leach

Penetasan telur *Artemia salina* leach dilakukan dengan menggunakan media air laut buatan dalam wadah bersekat berlubang yang dibagi menjadi bagian gelap dan bagian terang. Penggunaan media air laut buatan bertujuan untuk menyesuaikan lingkungan hidup *Artemia* sehingga hampir sama dengan air laut alami. Telur *artemia* ditaburkan di bagian gelap dan telur yang telah menetas akan bergerak secara alami ke bagian terang karena larva bersifat fototaksis positif. Larva yang digunakan untuk penelitian ini adalah larva yang berumur 48 jam karena pada umur 48 jam organ-organ pada *artemia* sudah terbentuk lengkap dan cadangan makanannya sudah habis sehingga nantinya pada saat pengujian kematian *Artemia* benar-benar disebabkan karena ekstrak daun bayam duri dalam berbagai konsentrasi tersebut (Putri et al., 2020).

Larutan ekstrak etanol daun bayam duri dibuat menjadi 10 konsentrasi untuk terlebih dahulu digunakan sebagai orientasi, yaitu konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 dan 500 µg/mL dengan ditambah blanko sebagai kontrol negatif yang hanya berisi air garam dan larva udang. Penambahan blanko dilakukan untuk mengoreksi kematian larva yang bukan disebabkan oleh pengaruh ekstrak etanol daun bayam duri. Uji BSLT ini dilakukan masing-masing sebanyak 3 kali pengulangan (triplo) untuk memperoleh keakuratan data dan mengurangi kesalahan dalam proses penelitian. Pengamatan dilakukan 24 jam setelah perlakuan konsentrasi ekstrak. Perhitungan kematian larva dilakukan dengan cara mengamati pergerakan larva selama beberapa detik. Kematian larva dihitung jika tidak ada pergerakan pada larva tersebut. Hasil pengujian sitotoksitas daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengujian Sitotoksitas Daun Bayam Duri

No	Konsentrasi (µg/mL)	Perlakuan 1		Perlakuan 2		Perlakuan 3		Rerata % mortalitas
		Larva mati	% mortalitas	Larva mati	% mortalitas	Larva mati	% mortalitas	
1	Blanko	0	0	0	0	0	0	0
2	150	2	20	3	30	3	30	26,7%
3	200	3	30	2	20	4	40	30 %
4	250	5	50	4	40	3	30	40 %
5	300	5	50	5	50	5	50	50 %
6	350	7	70	5	50	6	60	60 %
7	400	8	80	9	90	8	80	83,3 %

Berdasarkan data tersebut jumlah larva tiap perlakuan adalah 10 ekor dengan 3 kali perlakuan, sehingga totalnya 30 ekor. Tabel 3 dapat diketahui persentase mortalitas dari konsentrasi yang rendah 150 µg/mL ke konsentrasi yang paling tinggi terdapat pada konsentrasi 400 µg/mL mempunyai persentase yaitu sebesar 20-80%. Sedangkan pada blanko tidak memberikan mortalitas terhadap larva. Hal ini sesuai dengan teori, bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin banyak jumlah larva yang mati. Selain itu dari persentase kematian larva tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan menghasilkan jumlah kematian larva yang semakin tinggi pula (Rossa et al., 2023). Kematian larva *Artemia salina* leach disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak daun bayam duri. Pada kadar tertentu memiliki kemampuan yang dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* leach. Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa dalam sampel yang dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan. Dalam hal ini senyawa metabolit sekunder yang di duga sebagai zat yang menyebabkan kematian larva *Artemia salina* leach tersebut adalah flavonoid dan alkaloid (Marliza & Oktaviani, 2021).

Data yang diperoleh pada Tabel 3 tersebut, kemudian dianalisis dengan menggunakan tabel analisis probit untuk mendapat nilai LC_{50} (*lethal concentration* 50) dan menggunakan SPSS V.20 untuk menunjukkan grafik yang dihasilkan. Menentukan harga LC_{50} digunakan analisis persamaan regresi linier antara probit sebagai sumbu Y terhadap log konsentrasi sebagai sumbu X sehingga didapatkan grafik persamaan garis lurus $Y = 3,3873X - 3,215$ sedangkan kurva yang didapatkan dengan SPSS V.20 menunjukkan koefisien korelasi yang didapat yakni $R^2 = 0,8407$ yang berarti bahwa sebesar 84,07% perubahan nilai probit dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak. Hal ini menunjukkan meningkatnya konsentrasi ekstrak diikuti dengan meningkatnya nilai probit (respon kematian larva) Berdasarkan nilai R^2 yang didapatkan tersebut dapat dikatakan bahwa tingkat hubungan yang dihasilkan tergolong sangat kuat (Panggabean et al., 2020).

4. KESIMPULAN

Golongan senyawa yang positif terkandung di dalam daun bayam duri (*Amaranthus spinosus* L.) dengan metode skrining fitokimia yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan glikosida. Berdasarkan hasil uji sitotoksitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bayam duri

(*Amaranthus spinosus* L.) bersifat toksik dan berpotensi sebagai antikanker dengan daya sitotoksitas yang didapat yakni nilai LC50 = 269,15 µg/mL.

REFERENCES

- Arnanda, Q. P., & Nuwarda, R. F. (2019). Penggunaan radiofarmaka teknesium-99m dari senyawa glutation dan senyawa flavonoid sebagai deteksi dini radikal bebas pemicu kanker. *Farmaka*, 17(2), 236–243.
- Chusniasih, D., & Tutik, T. (2020). Uji Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Dan Identifikasi Komponen Fitokimia Ekstrak Aseton Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 5(2), 192–201.
- Depkes, R. I. (1989). *Materia Medika Indonesia*, Edisi V, Jakarta. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*.
- Djindadi, I. T., Tulandi, S. S., Mongi, J., & Palandi, R. R. (2020). Aktivitas Antibakteri Daun Bayam Duri *Amaranthus Spinous* Linn Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Majalah Info Sains*, 1(2), 22–29.
- Fadli, F., Suhaimi, S., & Idris, M. (2019). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(1), 35–42.
- Fatmawati, S. (2019). *Bioaktivitas dan konstituen kimia tanaman obat Indonesia*. Deepublish.
- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. (2019). Ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai antioksidan dan antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 86–93.
- Indriyanti, E., Purwaningsih, Y., & Wigati, D. (2018). Skrining Fitokimia dan Standarisasi ekstrak kulit buah labu kuning (*Cucurbita moschata*). *Cendekia Eksakta*, 3(2). <https://publikasiilmiah.unwahas.ac.id/index.php/CE/article/view/2473>
- Kaban, V. E., Nasri, N., Gurning, K., Syahputra, H. D., & Rani, Z. (2022). Formulasi Sediaan Lip Cream Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* [L] Benth.) sebagai Pewarna Alami. *INSOLOGI: Jurnal Sains Dan Teknologi*, 1(4), 393–400.
- Kurniawan, H., & Ropiqa, M. (2021). Uji toksisitas ekstrak etanol daun ekor kucing (*Acalypha hispida* Burm. F.) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 3(2), 52–62.
- Marliza, H., & Oktaviani, D. (2021). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia Gigantea* Hook. F) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Bencoolen Journal Of Pharmacy*, 1(1), 38–45.
- Nabila, M. P., & Fitrianiingsih, S. P. (2023). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Pelawan (*Tristanopsis Merguensis* Griff.) Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 9–16. <https://proceedings.unisba.ac.id/index.php/BCSP/article/view/7681>
- Nasri, N., Kaban, V. E., Satria, D., Syahputra, H. D., & Rani, Z. (2023). Mekanisme Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Salmonella typhi*. *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 4(1).
- Nasri, N., Satria, D., Kaban, V. E., Tania, C. G., Syahputra, H. D., & Rani, Z. (2024). Antibacterial Potential of Ethanolic Extract of Avocado Leaves (*Persea americana* mill.) against Clinical Isolate of *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis*. *Trends in Sciences*, 21(7), 7821–7821.
- Nasution, F. A.-U., Ridwanto, R., & Rani, Z. (2023). Uji sitotoksitas ekstrak etanol daun sirih cina (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth) dengan metode brine Shrimp lethality test. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 1927–1934.
- Nasution, H. M., Rani, Z., Fauzi, Z. P. A., & Ridho, A. R. (2024). Antimicrobial Activity Test of Ethanol Extract of Senggani Leaves (*Melastoma malabatricum* L) Against *Propionibacterium Acnes* and *Staphylococcus Epidermidis*. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 6(2), 292–298.
- Nasution, H. M., Yuniarti, R., Rani, Z., & Nursyafira, A. (2022). Phytochemical Screening And Antibacterial Activity Test Of Ethanol Extract Of Jengkol Leaves (*Archidendron Pauciflorum* Benth.) IC Nielsen Against *Staphylococcus Epidermidis* And *Propionibacterium Acnes*. *International Journal of Science, Technology & Management*, 3(3), 647–653.
- Ningtias, A., & Rani, Z. (2023). Simplicia Characteristics and Phytochemical Screening of Buni Fruit (*Antidesma bunius* L. Spreng). *Indonesian Journal of Science and Pharmacy*, 1(1), 1–7.
- Nurbaity, N. (2020). *Efektivitas Pasta Gigi Ekstrak Etanol Daun Afrika (Vernonia Amygdalina Del) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus* [PhD Thesis, Skripsi, Universitas Muhammadiyah Magelang]. <http://eprintslib.ummgl.ac.id/id/eprint/2475>
- Nurmazela, V., Ridwanto, R., & Rani, Z. (2022). Antioxidant Activity Test of Barangan Banana Hump's Ethanol Extract (*Musa Paradisiaca* (L.)) with DPPH (1, 1 Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Method. *International Journal of Science, Technology & Management*, 3(5), 1478–1483.
- Panggabean, L., Nurhamidah, N., & Handayani, D. (2020). Profil fitokimia dan uji sitotoksik ekstrak etanol tumbuhan *Zanthoxylum acanthopodium* DC (Andaliman) menggunakan metode BSLT. *ALOTROP*, 4(1). <https://ejournal.unib.ac.id/alotropjurnal/article/view/13711>
- Pulungan, A. F., Ridwanto, R., Dalimunthe, G. I., Rani, Z., Dona, R., Syahputra, R. A., & Rambe, R. (2022). Phytochemical Screening And Antioxidant Activity Testing Of Porang (*Amorphophallus Muelleri* Blume) Leaf Ethanol Extract From Kuta Buluh Region, North Sumatera. *International Journal of Health and Pharmaceutical (IJHP)*, 3(1), 1–7.
- Purnomo, F. O. (2023). REVIEW TANAMAN BAYAM BERDURI (*Amaranthus spinosus* L.): SKRINING FITOKIMIA DAN PEMANFAATANNYA. *Binawan Student Journal*, 5(1), 77–83.
- Puspitasari, E., & Rozirwan, M. H. (2018). Uji toksisitas dengan menggunakan metode brine shrimp lethality test (BSLT) pada ekstrak mangrove (*Avicennia marina*, *Rhizophora mucronata*, *Sonneratia alba* dan *Xylocarpus granatum*) yang berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*, 18(1), 91–103.
- Putri, T., Supono, S., & Putri, B. (2020). Pengaruh jenis pakan buatan dan alami terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup larva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 8(2), 176–192.
- Rachmawati, S. R., & Suriawati, J. (2019). Characterization of moringa (*moringa oleifera* lam.) leaf water extracts by chemical and microbiology. *SANITAS J Teknol Dan Seni Kesehat*, 10(2), 102â.

- Rafita, R. Y., Nasution, H. M., Rani, Z., & Fahmi, F. (2022). The Buas Buas Leaf Utilization of Buas Buas Leaf (*Premna pubescens* Blume) Ethanol Extract as Liquid Soap With Anti-Bacteria Activity. *International Journal of Science, Technology & Management*, 3(3), 733–743.
- Rambe, R., Rani, Z., & Thomas, N. A. (2021). Uji Efektivitas Mukolitik Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill) Urb). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 3(2), 71–77.
- Rani, Z. (2021). *Evaluasi Sediaan Nanokrim Anti-Aging dari Vco (Virgin Coconut Oil) dengan Menggunakan Gliserol Produk Samping Transesterifikasi Minyak Goreng Bekas Sebagai Kosurfaktan*. Universitas Sumatera Utara.
- Rani, Z., Pulungan, A. F., Ningtias, A., & Nasution, H. M. (2023). *Krim Pelembab Kulit Semangka*. LPPM UMNAW.
- Rani, Z., Ridwanto, R., Miswanda, D., Yuniarti, R., Sutiani, A., Syahputra, R. A., & Irma, R. (2022). Cytotoxicity Test of Cocoa Leaf Ethanol Extract (*Theobroma Cacao* L.) With Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST)*, 5(2), 80–87.
- Ratu, A. P., & Mugiyanto, E. (2018). Uji Toksisitas Daun Ketepeng (*Cassia Alata* L.), Kulit Buah Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca* L. Var Sapiantum) Dan Kulit Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga* Linn.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Prosiding University Research Colloquium*, 189–194. <http://repository.urecol.org/index.php/proceeding/article/download/112/109>
- Ridwanto, R., Pratiwi, A., & Rani, Z. (2023). Isolation and Toxicity Test of Chitosan from Green Mussels (*Perna viridis* L.) With Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(5), 759–765.
- Ridwanto, R., Saragih, D. S., Rani, Z., Pulungan, A. F., Syahputra, R. A., Kaban, V. E., & Nasri, N. (2023). TOXICITY TEST OF VANAME SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) SKIN CHITOSAN USING BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD. *Rasayan Journal of Chemistry*, 16(4).
- Ridwanto, R., Trizaldi, A., Rani, Z., Daulay, A. S., Nasution, H. M., & Miswanda, D. (2023). Antioxidant Activity Test Of Methanol Extract Of Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lam.) Bark With Dpph (1, 1 Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) Method. *International Journal of Health and Pharmaceutical (IJHP)*, 3(2), 232–240.
- Robiatun, R. R., Pangondian, A., Paramitha, R., Rani, Z., & Gultom, E. D. (2022). Formulation And Evaluation Of Hand Sanitizer Gel From Clove Flower Extract (*Eugenia aromatica* L.). *International Journal of Science, Technology & Management*, 3(2), Article 2. <https://doi.org/10.46729/ijstm.v3i2.472>
- Rossa, A., Daulay, A. S., Ridwanto, R., & Rahayu, Y. P. (2023). Aktivitas antioksidan dan uji toksisitas ekstrak kulit batang kayu raru (*Cotylelobium lanceolatum* Craib) dengan menggunakan metode DPPH dan metode BSLT. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 339–352.
- Sahputra, A., Sadarun, B., & Sahidin, I. (2019). KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI ANTI BAKTERI *SPONS Phyllospongia* sp. DI PERAIRAN YANG BERBEDA. *Jurnal Sapa Laut (Jurnal Ilmu Kelautan)*, 4(4), 153
- Septiana, L., Winata, H. S., Panggabean, F. E. W., Rani, Z., & Rambe, R. (2024). FORMULASI SEDIAAN GEL EKSTRAK KULIT BATANG ASAM KANDIS (*Garcinia xanthochymus* Hook. F. Ex. Anderson) DAN UJI ANTIINFLAMASI TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN. *Forte Journal*, 4(1), 183–190.
- Sepvina, N. I., Ridwanto, R., & Rani, Z. (2022). Uji Toksisitas Kitosan Cangkang Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 7(2), 380–389.
- Suryani, M., Rani, Z., & Surbakti, C. I. (2024). PEMANFAATAN EKSTRAK ETANOL DAUN MIANA (*Coleus scutellaroides* (L.) Benth) SEBAGAI PEWARNA ALAMI PADA SEDIAAN LIPSTIK. *Forte Journal*, 4(1), 217–224.
- Syahputra, R. A., Fajrina, R., Rani, Z., & Rahmadani, A. (2023). Producing Polyurethane as Wound Plaster using Glycerol Transesterified of Waste Cooking Oil with Moringa Leaf Extract (*Moringa Oleifera* Lam.) as an Antimicrobial. *Trends in Sciences*, 20(12), 6963–6963.
- Syahputra, R. A., Sutiani, A., Silitonga, P. M., Rani, Z., & Kudadiri, A. (2021). Extraction and phytochemical screening of ethanol extract and simplicia of moringa leaf (*Moringa oleifera* Lam.) from sidikalang, north sumatera. *International Journal of Science, Technology & Management*, 2(6), 2072–2076.
- Yanti, S., & Vera, Y. (2019). Skrining fitokimia ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)*, 4(1), 41–46.
- Yuza, M., Ridwanto, R., & Rani, Z. (2023). Determination Of Total Flavonoid Content Of Yellow Wood (*Arcangelisia Flava* (L.) Merr) Extract And Antibacterial Activity Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 9(3), 140–145.
- Zafriah, R. M., & Amalia, R. (2018). Anti kanker dari tanaman herbal. *Farmaka*, 16(1), 15–23.