

## Toksisitas Akut Fraksi Ekstrak Etanol Daun Kawista (*Limonia acidissima* L.) DENGAN Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

### Acute Toxicity Of Ethanol Extract Kawista Leaf (*Limonia acidissima* L.) Fraction Using Brine Ship Lethlty Test Method

Sitti Fauziah<sup>1</sup>, Musdalifah<sup>2</sup>, Miratun<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar

Corresponding Author

[Miratulbima55@gmail.com](mailto:Miratulbima55@gmail.com)

#### ABSTRAK

Senyawa kimia yang terkandung pada tumbuhan kawista antara lain yaitu flavonoid, saponin dan glikosida. Penelitian tentang uji toksisitas akut fraksi ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* telah dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas akut dari fraksi ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Siplisia daun kawista (*Limonia acidissima* L.) sebanyak 250 g diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh, ditimbang sebanyak 20 g untuk dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 96% diperoleh nilai  $LC_{50}$  yang berbeda tiap fraksi, dimana fraksi n-heksan memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 21,086  $\mu\text{g/mL}$ , ekstrak etil asetat memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 19,9021  $\mu\text{g/mL}$ , dan ekstrak etanol 96% memiliki nilai  $LC_{50}$  sebesar 11,776  $\mu\text{g/mL}$  ketiganya dengan kategori toksik.

#### KATA KUNCI

Toksisitas Akut; *Brine Shrimp Lethality Test* ; *Limonia acidissima* L.

#### ABSTRACT

Chemical compounds contained in kawista (*Limonia acidissima* L.) plants include flavonoids, saponins and glycosides. Research on the acute toxicity test ethanol extract of kawista (*Limonia acidissima* L.) leaf extract. With the *Brine Shrimp Lethality Test* method has been carried out. The purpose of this study was to determine the acute toxicity of the ethanolic extract of kawista leaf (*Limonia acidissima* L.) against *Artemia salina* Leach larvae by determining the  $LC_{50}$  value using the *Brine Shrimp Lethality test* method. Kawista leaf simplicia (*Limonia acidissima* L.) as much as 250 g was extracted by maceration using 96% ethanol as solvent. The extract was obtained, weighed as much as 20 g for fractionation using n-hexane, ethyl acetate and ethanol 96% the obtained  $LC_{50}$  values were different for each fraction, where the n-hexane fraction had an  $LC_{50}$  value of 21,086  $\mu\text{g/mL}$ , ethyl acetate extract, had the  $LC_{50}$  value of 19,9021  $\mu\text{g/mL}$ , and the ethanol extrac 96% has an  $LC_{50}$  value of 11,779  $\mu\text{g/mL}$ , all three categories are toxic.

#### KEYWORDS

acute toxicity, *Brine Shrimp Lethality Test*, *Limonia acidissima* L.

## PENDAHULUAN

Uji toksisitas merupakan suatu pengujian aktivitas farmakologis pada tanaman obat untuk mendeteksi efek racun dari jamur, toksisitas ekstrak tanaman, logam berat, pestisida dan sitotoksitas dengan menilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration*), sehingga dapat diketahui tanaman obat tersebut berpotensi sebagai antikanker dan antimikroba. Uji toksisitas pada ekstrak tanaman dilakukan untuk mendeteksi efek toksik dari tanaman tersebut (Berniyanti, 2018).

Metode yang sering dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa kimia dalam ekstrak tanaman salah satunya adalah *Brine Shrimp Lethality Test*. Metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai  $LC_{50}$  ekstrak uji yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Senyawa dengan  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$  dapat dianggap sebagai suatu senyawa aktif yang bersifat toksik dan dapat dikembangkan menjadi agen antikanker (Meyer et al., 1982).

Kanker merupakan suatu penyakit yang menempati peringkat tertinggi sebagai penyebab kematian di dunia. Penyakit ini ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkendali serta kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung pada jaringan yang bersebelahan (infasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh di dalam tubuh (metastatis) di dalam tubuh (Meiyanto, dkk., 2006).

Berbagai usaha telah dilakukan untuk menanggulangi berbagai penyakit kanker seperti pembedahan, radioterapi dan kemoterapi sitostatik. Pengobatan ini dilakukan untuk membunuh sel-sel kanker, namun tidak sedikit usaha tersebut justru menimbulkan efek samping, seperti terjadinya kerontokan pada rambut dan kulit menghitam. Alternatif yang aman untuk pengobatan penyakit kanker salah satunya yaitu dengan menggunakan bahan alami (Meiyanto, dkk., 2006).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas akut dari fraksi ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L.) terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan menentukan nilai  $LC_{50}$  menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test*.

## METODE PELAKSANAAN

### *Waktu dan Tempat Penelitian*

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai Mei 2022 di laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Makassar.

### **Alat dan bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah bejana maserasi, gelas ukur (pyrex<sup>®</sup>), gelas Erlenmeyer (pyrex<sup>®</sup>), labu tentukur (pyrex<sup>®</sup>), *rotary evaporator* (IKA<sup>®</sup>), cawan porselin, timbangan analitik (Electronic Balance<sup>®</sup>), seperangkat alat uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) yang terdiri atas wadah penetasan larva *Artemia salina* Leach, aerator, lampu pijar, mikropipet, pipet skala, autoklaf (Hirayama<sup>®</sup>) dan vial.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aquades, air laut, daun kawista (*Limonia acidissima* L.), etanol 96%, n-heksan, etil asetat, larva *Artemia salina* Leach, dan ragi (fermipan<sup>®</sup>).

### **Pengambilan dan pengolahan Sampel**

Sampel daun kawista (*Limonia acidissima* L.) diperoleh dari kabupaten bima, Provinsi Nusa Tenggara Barat dengan titik koordinat S 8°37'08.58" E 118°58'13.4508.

### **Ekstraksi Sampel**

Simplisia daun kawista (*Limonia acidissima* L.) sebanyak 250 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian dibasahi dahulu dengan pelarut etanol 96% sedikit demi sedikit dan dibiarkan ±15 menit, kemudian ditambahkan sisa pelarut etanol 96% sebanyak 2000 mL sampai simplisia terendam sempurna. Wadah maserasi ditutup dan dibiarkan selama 3x24 jam di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk, setelah itu disaring, dipisahkan antara ekstrak cair dan residunya. Residu yang tersisa ditambahkan kembali etanol 96%. Penyarian dengan cara maserasi ini dilakukan sebanyak 2 kali. Ekstrak cair yang diperoleh digabung, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian dihitung rendamen ekstrak.

### **Fraksinasi**

Ekstrak kental difraksinasi dengan pelarut bertingkat yaitu pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol 96%. Ekstrak kental sebanyak 20 gram dilarutkan dengan sedikit etanol dan ditambahkan 100 mL aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Setelah itu ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL, digojok perlahan-lahan. Larutan yang telah tercampur, diamkan beberapa menit sampai larutan memisah dan diambil fraksi n-heksan. Residu yang dihasilkan difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat. Pelarut etil asetat ditambahkan sebanyak 100 mL, digojok perlahan dan ditunggu sampai larutan memisah dan didapatkan fraksi etil asetat serta dilakukan pengulangan sampai larutan bening. Fraksi yang dihasilkan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

### **Penyiapan air laut**

Air laut yang telah diambil sebanyak 3–5 liter di saring dengan menggunakan kertas whatman dan disterilkan menggunakan autoklaf 15 menit dengan suhu 121°C

agar dapat membunuh protozoa pada air laut.

### **Pembuatan suspensi**

Ragi sebanyak 10 mg, ditambahkan dengan 15 mL air laut lalu diaduk hingga homogen, kemudian ragi tersebut dimasukkan ke dalam vial dan siap digunakan sebagai sumber makanan larva *Artemia salina* Leach.

### **Waktu Penyiapan hewan uji**

Bejana penetasan disiapkan sebanyak dua buah. Bejana pertama memiliki penerangan di bawah cahaya lampu pijar 60 Watt, kemudian bejana kedua dibuat dengan memiliki dua sisi ruang yaitu satu bagian dibuat gelap dan satu bagian dibuat terang. Setelah itu, larva *Artemia salina* Leach dimasukkan dalam wadah tersebut dan menetasakan selama 48 jam sebelum dilakukan uji. Dilakukan dengan cara merendam *Artemia salina* Leach dalam air larut yang telah disterilkan, seterusnya bejana tersebut disimpan dibawah cahaya lampu pijar 60 watt dilengkapi dengan aerator selama 24 jam. Kemudian *Artemia salina* Leach dipindahkan pada bejana penetasan ke dua, yaitu bejana pada sisi ruang gelap yang dilengkapi dengan aerator. *Artemia salina* Leach yang telah menetasakan berenang menuju sisi ruang yang memiliki cahaya. Perlakuan kedua dilakukan selama 24 jam.

### **Perlakuan pengujian**

#### **Pembuatan larutan stok ekstrak fraksi daun kawista**

Dibuat larutan stok 10.000 ppm, ditimbang ekstrak sebanyak 100 mg dilarutkan dalam etanol 96% 5 mL sampai 6 mL di dalam gelas piala, lalu dipindahkan ke labu tentukur volume 10 mL dan dicukupkan volumenya sampai tanda batas/garis melingkar dengan menambahkan etanol 96% kemudian dilakukan pengenceran, diinginkan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm dan 1 ppm dalam 10 mL volume akhir air laut dan 0 ppm (kontrol negatif).

#### **Cara memperoleh konsentrasi**

Konsentrasi 1000 ppm, dipipet larutan stok (10.000 ppm) sebanyak 1000  $\mu$ L (1 mL) dimasukkan kedalam vial yang sudah ditarir 10 mL lalu diuapkan, Untuk konsentrasi 100 ppm, larutan stok (10.000 ppm) dipipet sebanyak 100  $\mu$ L (0,1 mL) dimasukkan ke dalam vial yang sudah ditarir 10 mL lalu diuapkan, Untuk Konsentrasi 10 ppm, larutan stok (10.000 ppm) dipipet sebanyak 10  $\mu$ L (0,01 mL) dimasukan kedalam vial yang sudah ditarir 10 mL, lalu diuapkan, Untuk konsentrasi 1 ppm, larutan stok (10.000 ppm) dipipet sebanyak 0,1  $\mu$ L (0,00 mL) dimasukkan kedalam vial yang sudah ditarir 10 mL lalu diuapkan dan Untuk konsentrasi 0 ppm (kontrol negatif) dipipet 5 mL air laut di tambah etanol 96% sebanyak 1,0 mL, kedalam vial yang sudah ditarir 10 mL lalu diuapkan.

### **Pengujian pada larva *Artemia salina* Leach**

Setelah semua etanolnya menguap, sebagai patokan adalah kontrol negatif kalau volumenya sisa < 5 mL, berarti semua etanol menguap, maka selanjutnya semua vial ditambahkan air laut sampai volume  $\pm$  7 mL (untuk mengantisipasi terjadi kelebihan volume akibat ikut tersedot ketika mengambil larva udang menggunakan pipet). Kemudian 10 ekor larva *Artemia salina* Leach dimasukkan kedalam masing-masing vial sesuai konsentrasi dan di tambah suspensi ragi sebanyak 3 tetes sebagai makanan, dicukupkan volumenya 10 mL dengan air laut, lalu digoyang-goyang agar cairan merata. Setelah itu Semua vial (mengandung fraksi ekstrak dan kontrol negat) disimpan dalam suhu kamar (temperatur 27°C) selama 24 jam, kemudian diamati dan dihitung jumlah larva yang mati.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini menggunakan daun kawista (*Limonia acidissima* L.) bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut dari fraksi ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menentukan nilai LC<sub>50</sub> menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Penelitian ini menggunakan metode BSLT, karena metode ini merupakan salah satu metode untuk bahan-bahan yang bersifat sitotoksik dan digunakan sebagai bioassay pertama untuk penelitian bahan alam serta dengan metode ini efek toksisitas dari suatu senyawa dapat ditentukan dalam waktu yang singkat yaitu selama 24 jam masa perlakuan dengan menentukan nilai LC<sub>50</sub> dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap Larva *Artemia salina* Leach (Carballo et al., 2002).

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Metode ini tidak menggunakan pemanasan pada prosesnya sehingga aman untuk senyawa yang terkandung dalam sampel yang rusak dengan suhu tinggi. Pelarut yang digunakan yaitu etanol karena mudah diuapkan, memiliki toksisitas rendah dan mampu menarik senyawa polar maupun non polar dari daun kawista. Hasil ekstraksi yang diperoleh yaitu sebanyak 20 g dengan persen rendamen ekstrak 10% (Rowe, et al., 2009).

Hasil fraksi ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L.) yang diperoleh menggunakan pelarut n-heksan sebesar 1,08 g, pelarut etil asetat sebesar 0,25 g dan pelarut etanol 96% sebesar 1,57 g. Hasil yang diperoleh memiliki jumlah yang berbeda, hal ini menunjukkan bahwa pada senyawa metabolit sekunder yang telah difraksi oleh berbagai jenis pelarut yang digunakan berhasil menyari golongan senyawa metabolit yang berbeda pada sampel (Ma'arif, 2015)

Hewan uji yang digunakan adalah larva *Artemia salina* Leach hal ini disebabkan karena selain memiliki ukuran sangat kecil, pertumbuhannya cepat sehingga dapat

diasumsikan sebagai pertumbuhan sel yang abnormal. Pembanding atau kontrol negatif yang digunakan adalah air laut, dimaksudkan untuk melihat apakah respon kematian hewan uji benar-benar berasal dari sampel atau disebabkan oleh faktor teknis perlakuan, dimana air laut digunakan karena merupakan tempat hidup dari larva *Artemia salina* Leach sendiri (Bertomi, 2011).

Suspensi ragi ditambahkan sebagai sumber makanan larva dalam tiap vial perlakuan. Penambahan makanan bertujuan untuk memastikan bahwa kematian larva bukan disebabkan karena kekurangan makanan. Pembebasan protozoa dilakukan untuk memastikan bahwa kematian larva bukan karena protozoa. Pembebasan protozoa air laut dilakukan dengan cara air laut disaring terlebih dahulu dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit.

Jumlah larva *Artemia salina* Leach yang mati dalam tiap vial selama 24 jam dapat dihitung dengan cara manual dan mikroskopik. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. Cara manual yaitu dengan mengamati larva udang di dalam vial dengan atau tanpa bantuan lup dan dengan bantuan cahaya. Jumlah larva yang mati dihitung dengan mengurangkan jumlah total larva pada tiap konsentrasi dengan jumlah larva yang masih hidup.

Toksisitas akut diperoleh dari pengamatan dengan menghitung presentasi kematian larva *Artemia salina* Leach setelah 24 jam pada tiap konsentrasi. Melalui persen kematian, dicari nilai probit tiap konsentrasi untuk menentukan log konsentrasi uji kemudian dibuat grafik dengan persamaan garis lurus hubungan antara probit dengan log konsentrasi,  $y = bx + a$  dimana  $y$ : angka probit dan  $x$ : log konsentrasi, kemudian ditarik garis dari harga probit 5 (= 50% kematian hewan coba) menuju sumbu X, didapatkan log konsentrasi diantilogkan untuk mendapatkan harga LC<sub>50</sub> atau LC<sub>50</sub> dapat juga dihitung dari persamaan garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai 5 (probit dari 50% kematian hewan coba) sebagai  $y$  hingga dihasilkan  $x$  sebagai nilai log konsentrasi. LC<sub>50</sub> dihitung dan diperoleh dari anti log nilai  $x$  tersebut (Prayanto, 2009).

Hasil fraksinasi ekstrak etanol 96% yang diperoleh kemudian dilakukan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimph Lethal Test* menggunakan larva *Artemia salina* Leach. Hasil uji toksisitas menunjukkan nilai LC<sub>50</sub> yang berbeda tiap fraksi n-heksan memiliki LC<sub>50</sub> sebesar 21,086 µg/mL, etil asetat memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 19,9021 µg/mL dan ekstrak etanol 96% memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 11,776 µg/mL, ketiganya termasuk dalam kategori toksik (Tabel 1, 2 dan 3).

Tabel 1. Data Kematian dan Presentasi Kematian larva *Artemia salina* Leach untuk Fraksi n-Heksan Daun Kawista (*Limonia acidissima* L.)

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	Jumlah larva mati			Total Larva		Presentasi Kematian	Nilai Probit
		V1	V2	V3	Uji	Mati		
1000	3	10	10	9	30	29	80	5,84
100	2	8	7	6	30	21	53,33	5,08
10	1	7	6	6	30	19	46,66	4,90
1	0	5	4	5	30	14	30	4,48
Kontrol (-)		2	1	2	30	5	-	-
Pers. Regresi		$y = 0,426x + 4,436$						
		Nilai LC <sub>50</sub> = 21,086 µg/MI						

Tabel 2. Data Kematian dan Presentasi Kematian larva *Artemia salina* Leach untuk fraksi Etil Asetat Daun Kawista (*Limonia acidissima* L.)

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	Jumlah larva mati			Total Larva		Presentasi Kematian	Nilai Probit
		V1	V2	V3	Uji	Mati		
1000	3	10	10	10	30	30	83,33	5,95
100	2	8	7	6	30	21	53,33	5,08
10	1	8	7	5	30	20	50	5,00
1	0	6	5	2	30	13	26,66	4,36
Kontrol (-)		1	2	2	30	5	-	-
Pers. Regresi		$y = 0,485x + 4,37$						
		Nilai LC <sub>50</sub> = 19,902 µg/MI						

Tabel 3. Data Kematian dan Presentasi Kematian larva *Artemia salina* Leach untuk Fraksi Etanol 96% Daun Kawista (*Limonia acidissima* L.)

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi	Jumlah larva mati			Total Larva		Presentasi Kematian	Nilai Probit
		V1	V2	V3	Uji	Mati		
1000	3	10	10	10	30	30	83,33	5,95
100	2	8	7	7	30	22	56,66	5,15
10	1	7	7	6	30	20	50	5,00
1	0	6	5	4	30	15	33,33	4,56
Kontrol (-)		2	1	2	30	5	-	-
Pers. Regresi		$y = 0,432x + 4,537$						
		Nilai LC <sub>50</sub> = 11,776 µg/mL						

Hasil analisis data menunjukkan bahwa fraksi etanol 96% memiliki nilai LC<sub>50</sub> yang lebih tinggi dan lebih aktif dibandingkan fraksi etil asetat dan n-heksan. Hal ini karena flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar dan semi polar. Oleh karena itu senyawa flavonoid lebih cenderung larut pada pelarut etanol yang bersifat polar dan etil asetat yang bersifat semi polar sedangkan pada pelarut n-heksan tidak dapat menarik senyawa flavonoid karena n-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar sehingga hanya dapat menarik senyawa minyak atsiri (Harbone, 1987; Ridwanuloh & Putama Mursal, 2018).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi ekstrak etanol daun kawista (*Limonia acidissima* L) memiliki nilai LC<sub>50</sub> yang berbeda tiap fraksi, fraksi

n-heksan memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 21,086 µg/mL, fraksi etil asetat memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 19,9021 µg/mL dan fraksi etanol 96% memiliki nilai LC<sub>50</sub> sebesar 11,776 µg/mL ketiganya dengan kategori toksik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Berniyanti, T., 2018. Biomarker Toksisitas: Paparan Logam Tingkat Molekuler. *Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga*
- Bertomi, R., 2011. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (Alyxia cortex) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Skripsi. Universitas Sanata Dharma: Yogyakarta
- Carballo, J. L., Hernández-Inda, Z. L., Pérez, P., & García-Grávalos, M. D. 2002. A Comparison Between Two Brine Shrimp Assays To Detect In Vitro Cytotoxicity In Marine Natural Products. *BMC Biotechnology*, 2, 1–5.
- Hanani, E., 2015. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB: Bandung
- Irwan, A. S., 2017. Uji Aktivitas Antimikrob Hasil Fraksinasi Ekstrak rimpang Jerimgau (*Acorus calamus* L.) terhadap Bakteri Patogen. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Makassar
- Kanwar, A., 2007. Brine Shrimp (*Artemia salina*) Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Journal of Chinese Clinical Medicine*.
- Ma'arif, B., 2015. Aktivitas Ekstrak n-Heksan dan Fraksi Hasil Pemisahan Daun Marsilea Crenata Presl terhadap Diferensiasi Sel Preosteoblas MC3T3-E1 Pengukuran Alkaline Phosphatase In Vitro. *Tesis*. Surabaya: Universitas Airlangga
- Meiyanto, E., Suparjan, D., M. dan Agustina, D., 2006. Efek Antiproliferatif Pentagamavunon terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. 14 (1): 011-015
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L., 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medicinal Plant Research, Planta Medica*, 45(1), 31–34
- Ridwanuloh, D., & Putama Mursal, I. L., 2018. Isolasi Metabolit Sekunder Dari Daun Kawista ( *Limonia Acidissima* L. ). *Pharma Xplore : Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1), 159–163