



Alotrop

Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia

p-ISSN 2252-8075 e-ISSN 2615-2819

PROFIL FITOKIMIA DAN ANALISIS TOKSISITAS BUAH ARA (*Ficus racemosa* L.) MENGGUNAKAN METODE BRINE SHRIMP (*Artemia salina*) LETHALITY TEST

Novia Suryani^{1*}, Serli Gustiana¹

¹Universitas Islam Negeri Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia

*Email: noviasuryani@uinmataram.ac.id

ABSTRACT

[Phytochemical Profile and Toxicity Analysis of Figs (*Ficus racemosa* L.) Using Shrimp (*Artemia salina*) Brine Method Lethality Test] A traditional plant, *Ficus racemosa* L., known as the ara plant in West Nusa Tenggara, is potentially beneficial as a drug candidate, which is one option to develop the biodiversity of natural ingredients in Indonesia. The extract was produced by maceration method with ethanol 96% solvent. Furthermore, they partitioned using various solvents, n-hexane, ethyl acetate, and chloroform. The presence or absence of secondary metabolite is determined by the phytochemical screening test. Meanwhile, the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) is a toxicity screening to determine the LC_{50} of extract and their partition with various concentrations used were 50, 100, 250, 500, and 1000 ppm. The metabolite secondary flavonoids, alkaloids, and saponins are confirmed. The analysis showed that LC_{50} of extract was 218,34 ppm; n-hexane fraction was 413,57 ppm; ethyl acetate fraction was 309.51 ppm; and chloroform fraction was 314.60 ppm; all had toxic potential.

Keywords: Phytochemical; toxicity; ara fruit; *Ficus racemosa* L.; *Artemia salina*.

ABSTRAK

Tanaman tradisional, *Ficus racemosa* L., yang dikenal sebagai tanaman ara di Nusa Tenggara Barat, berpotensi sebagai kandidat obat, yang merupakan salah satu pilihan tanaman yang dapat dieksplorasi dalam mengembangkan keanekaragaman hayati bahan alam di Indonesia. Ekstrak tanaman diperoleh menggunakan metode maserasi dalam pelarut etanol 96%. Selanjutnya ekstrak dipartisi dengan variasi pelarut seperti, pelarut n-heksana, etil asetat, dan kloroform. Ada atau tidaknya kandungan metabolit sekunder pada ekstrak dan partisi ditentukan melalui uji skrining fitokimia. Sementara itu, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan skrining toksisitas yang digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} ekstrak dan partisi yang dibuat dalam variasi konsentrasi yaitu 50, 100, 250, 500, dan 1000 ppm. Metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak dan partisi berupa senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin. Hasil analisis toksisitas menunjukkan bahwa LC_{50} ekstrak etanol buah ara sebesar 218,34 ppm; fraksi n-heksana 413,57 ppm; fraksi etil asetat 309,51 ppm; dan fraksi kloroform 314,60 ppm. Berdasarkan nilai LC_{50} tersebut, ekstrak buah ara dan partisinya memiliki potensi toksik.

Kata kunci: Fitokimia; toksisitas; buah ara; *Ficus racemosa* L.; *Artemia salina*.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyakit yang mampu menjangkiti semua organ atau jaringan organ ketika sel abnormal tumbuh secara tidak terkendali [1], melampaui batas pada umumnya dan menyerang bagian tubuh yang berdekatan dan terus menyebar ke organ yang lain. Penyakit ini dapat terjadi akibat adanya zat karsinogenik yang mempengaruhi DNA dalam proses pembelahan sel [2].

Penyakit kanker dikenal sebagai salah satu penyakit penyebab terjadinya kematian yang patut untuk diperhitungkan [3]. Faktanya, kanker merupakan penyakit yang menyebabkan kasus kematian mencapai 10 juta kematian di Tahun 2020, umumnya berupa kanker payudara, paru-paru, kolon, rektum, dan prostat. Sebanyak 2,3 juta wanita yang didiagnosa mengalami kanker payudara dengan kasus kematian sebanyak 685.000 di tahun 2020. Diikuti dengan kanker paru-paru, kolon, prostat, lambung dan hati adalah jenis kanker yang umum terjadi pada laki-laki [4]. Penyakit kanker juga didaulat sebagai penyakit penyebab kematian nomor dua terbesar setelah penyakit kardiovaskular.

Upaya pengobatan penyakit kanker masih terus dikembangkan. Faktanya, keberadaan bahan alam yang beranekaragam berhasil menjadi *lead compound* terhadap kandidat-kandidat senyawa aktif yang berpotensi sebagai zat aktif obat kanker [5]. Hampir mendekati 80% populasi tanaman tradisional terus mengalami perkembangan dalam produksi sediaan obat kanker [6].

Ficus racemosa L. lebih dikenal sebagai tumbuhan ara di Nusa Tenggara Barat. Secara turun temurun, tumbuhan elo banyak digunakan sebagai obat alternatif dalam mengatasi diare [7] baik pada orang dewasa maupun anak kecil. Kandungan kulit akarnya juga memiliki

komposisi flavonoid [8], [9] tinggi yang berpotensi sebagai antioksidan alami [10], [11], [12] dengan nilai IC_{50} sebesar 1,66 ppm dan berhasil diisolasi serta diidentifikasi sebagai senyawa kuersetin. Selain senyawa kuersetin [13], asam rasemosat yang berhasil diisolasi dari tumbuhan ara memiliki potensi digunakan sebagai pengobatan penyakit inflamasi dengan aktivitas IC_{50} dalam menghambat COX-1 dan 5-LO secara *in vitro* sebesar 90 dan 18 μ M. Bagian akar dan daun tumbuhan elo juga dianggap memiliki potensi sebagai obat diabetes [14], [15]. Selain itu, buah tanaman ara yang dikenal dengan rasa pahit memiliki potensi sebagai antikanker melawan sel HepG-2 dengan metode *in vitro*.

Metode analisis kemampuan bioaktivitas suatu bahan alam dapat diamati, salah satu metode *in vitro* sederhana yang dapat digunakan untuk mengetahui sifat toksik dari suatu bahan alam adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) [16], [5], [17], [17]. Metode ini dapat memonitor ada tidaknya aktivitas farmakologis yang dimiliki oleh suatu ekstrak bahan alam [19]. Metode ini menggunakan prosedur penentuan nilai IC_{50} yang diperoleh dari aktivitas zat aktif suatu tanaman terhadap suatu larva udang *Artemia salina* Leach [20], [21]. Hewan uji ini memiliki kepekaan yang cukup tinggi terhadap sifat toksik dan dapat digunakan sebagai metode awal untuk mencari senyawa-senyawa toksik pada suatu sampel bahan alam [22], [23], [24].

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga Agustus Tahun 2022, di Laboratorium Terpadu UIN Mataram dan Laboratorium Politeknik Medika Farma Husada Mataram. Penggunaan alat-alat penelitian yaitu gelas beaker 25 mL (Pyrex), gelas ukur 25 mL (Ducan), Labu ukur 25 mL (Pyrex), tabung reaksi

10 mL (Pyrex), rak tabung reaksi, *hotplate* (Thermos Scientific), pipet ukur 10 mL (Pyrex), corong gelas 65 mm (Herma), (Pyrex), corong pisah 50 mL (Pyrex), pipet tetes 15 cm, spatula, timbangan analitik (Sonic), rotary evaporator (B-ONE), oven (Mettler), waterbath (Mettler), akuarium, kertas saring, aluminium foil, maserasor, ayakan 60 mesh, blender (Panasonic), cawan penguap 150 mL, plat tetes 12 lubang, statif, klem, *magnetic stirrer* 3 cm, botol vial 10 mL, erlenmeyer buchner 1000 mL (Pyrex), dan desikator vakum (Duran).

Bahan penelitian yaitu tanaman ara (*Ficus racemosa* L.) bagian buah yang diperoleh dari Desa Langko, Janapria, Lombok Tengah, NTB. Etanol 96% (Merck), n-heksana (Merck), kloroform (Merck), etil asetat (Merck), dimethyl sulfoxide (DMSO) (Merck), reagen Wagner (Sigma Aldrich), reagen Dragendorff (Sigma Aldrich), H_2SO_4 p.a (Merck), HCl p.a (Merck), serbuk magnesium (Mg) (Merck), $FeCl_3$ (Merck), NaCl (Merck), dan akuades (Chemika Karya).

Ekstraksi Tanaman Ara

Buah ara dipetik dan dicuci menggunakan air mengalir lalu dipotong dan dikeringkan menggunakan oven pada temperatur 60°C. Buah ara kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan ukuran 60 mesh. Ditimbang buah ara yang telah dihaluskan menggunakan sebanyak 150 g. Selanjutnya dimasukkan ke dalam *beaker glass* berisi 750 mL pelarut etanol 96 % dan direndam sempurna lalu ditutup rapat. Setelah sampel terendam sempurna, diaduk setiap dua hingga tiga jam sekali lalu didiamkan selama 1x24 jam. Hasil rendaman disaring setiap 1x24 jam dan dipisahkan antara hasil maserasi dan ampas. Ampas sampel akan direndam kembali menggunakan pelarut

yang baru menggunakan prosedur maserasi yang sama seperti sebelumnya hingga 3 kali pengulangan. Hasil maserasi total dijadikan satu dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* menggunakan temperatur 90-105°C. Evaporasi pelarut dilakukan hingga tidak ada lagi pelarut yang menetes. Ekstrak sampel disimpan di dalam desikator sebelum digunakan untuk analisis selanjutnya [25].

Kadar Air

Sampel di cuci bersih menggunakan air bersih mengalir. Selanjutnya dikeringkan pada temperatur kamar selama $\pm 1 \times 24$ jam. Sampel dimasukkan ke dalam oven dan dikeringkan dengan temperatur 105 °C selama 25 menit. Proses pengeringan dihentikan setelah pengukuran kadar air telah memenuhi standar SNI yang tidak melebihi 10% [26].

Partisi Ekstrak Tanaman Ara

Sebanyak ± 5 g ekstrak yang telah diperoleh dipartisi menggunakan variasi pelarut [27] berupa pelarut n-heksana, etil asetat dan kloroform masing-masing sebanyak 10 mL. Proses partisi menggunakan corong pisah 50 mL. Hasil partisi yang dianalisis lebih lanjut adalah larutan pada fasa organik.

Uji Kualitatif Fitokimia

Uji Flavonoid

Sampel ± 1 mL sampel ditambahkan dengan bubuk Mg dan HCl pekat sebanyak 3-5 tetes. Perubahan warna yang diamati menjadi warna jingga, merah bata, merah muda, hingga merah tua menunjukkan flavonoid terdapat pada sampel [28].

Uji Alkaloid

Sampel ± 1 mL dimasukkan ke tabung reaksi berbeda dan diberi tanda I dan II. Pereaksi Dragendorff dan Wagner

sebanyak $\pm 5-10$ tetes ditambahkan pada masing-masing tabung. Alkaloid teramati dengan adanya endapan merah jika bereaksi dengan reagen Dragendorff dan endapan coklat jika bereaksi dengan reagen Wagner [29], [30].

Uji Saponin

Sampel ± 1 mL dilarutkan pada ± 4 mL akuades panas. Setelah dingin, filtrat hasil penyaringan dikocok dengan kuat selama $\pm 15-20$ detik. Larutan HCl pekat $\pm 1-3$ tetes ditambahkan pada busa yang teramati. Busa yang konsisten (stabil) menunjukkan adanya saponin dalam sampel [31].

Uji Salkowski

Sampel ± 2 mL sampel dilarutkan dalam ± 2 mL kloroform. Sebanyak 3 -5 tetes H_2SO_4 pekat ditambahkan melalui dinding tabung reaksi. Steroid/terpenoid dapat diamati dengan terbentuknya cincin berwarna merah [32].

Uji Tanin

Sebanyak ± 1 mL sampel dilarutkan dalam ± 10 mL akuades. Larutan sampel dipanaskan dan disaring. Ditambahkan ± 5 mL $FeCl_3$ 1% (b/v). Terbentuknya warna biru tua, biru-kehitaman, coklat kehitaman atau hijau-kehitaman menunjukkan adanya tanin [33].

Uji Toksisitas

Pembuatan Air laut Buatan

Dipersiapkan sebanyak 15 g mineral dan dilarutkan dalam akuades ± 1 L kemudian diaduk hingga larut sempurna [34].

Penyiapan Larva Udang

Penetasan larva udang *Artemia salina* Leach dilakukan dengan merendam sebanyak 20 mg telur larva udang *Artemia salina* Leach di dalam akuarium yang berisi air laut buatan dan diberikan sinar cahaya lampu berwarna kuning (18

watt). Telur larva udang *Artemia salina* Leach akan menetas setelah 2 x 24 jam [34].

Pembuatan Konsentrasi Uji

Dipersiapkan larutan induk dari ekstrak buah dan masing-masing fraksi yang telah diperoleh. Sebanyak 100 mg ekstrak buah dan masing-masing fraksi ekstrak dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, dan DMSO (khusus sampel yang sulit dilarutkan yaitu etil asetat dan kloroform), kemudian larutan dipindahkan pada tabung vial 10 mL dengan variasi konsentrasi sebesar 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm. Dimasukkan masing-masing vial berisi larutan larva udang *Artemia salina* Leach usia 48 jam yang aktif bergerak sebanyak 10 ekor. Diencerkan larutan menggunakan larutan air laut hingga volume mencapai 10 mL. Kontrol negatif berisi larva uji dan air laut 10 mL tanpa adanya variasi ekstrak dan fraksi buah ara. Dilakukan pengerjaan yang sama pada larutan kontrol dan direplikasi sebanyak 3 kali pengulangan. Nilai % mortalitas larva udang diamati setelah inkubasi selama 1 x 24 jam. Berdasarkan data % mortalitas, data diolah berdasarkan data regresi yang diperoleh untuk menentukan nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} diperoleh berdasarkan perhitungan nilai probit dengan mengkonversi nilai % mortalitas dengan tabel Probit. Hasil *plotting* data antara nilai probit dan log konsentrasi akan menghasilkan persamaan garis regresi yang akan digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} ekstrak buah dan masing-masing fraksi yang telah diuji [35], [36], [37].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Kadar Air

Sampel yang telah dipreparasi memiliki nilai persentase kadar air sebesar 0,9924 %, hal ini telah

memenuhi aturan SNI yaitu tidak lebih dari 10%. Sampel kering memiliki daya simpan yang cukup panjang sebelum dilakukan ekstraksi [38]. Sampel simplisia kering akan diekstrak dengan metode maserasi dan dipekatkan sehingga diperoleh *crude extract* yang siap dianalisis.

Uji Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan metabolit sekunder. Adapun hasil skrining fitokimia ekstrak buah dan fraksi buah disajikan berikut:

Tabel 1. Senyawa metabolit sekunder ekstrak buah *Ficus racemosa* L.

Metabolit Sekunder	Keterangan
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Tanin	+
Steroid/Terpenoid	-
Saponin	-

Keterangan:

(-): tidak ada

(+): ada

Senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, dan tanin dikonfirmasi terkandung dalam ekstrak etanol buah ara. Efek farmakologis umumnya dimiliki oleh setiap senyawa metabolit [39], sehingga sangat umum dalam eksplorasi bahan aktif yang berasal dari alam perlu dilakukan pengujian awal fitokimia. Sedangkan hasil uji fitokimia masing-masing fraksi ekstrak buah ara disajikan pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Kandungan senyawa metabolit sekunder fraksi n-heksana, etil asetat, dan kloroform tanaman buah *Ficus racemosa* L.

Metabolit Sekunder	Hasil Pengamatan		
	Fraksi n-heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Kloroform
Flavonoid	-	-	-
Alkaloid	+	+	+
Tanin	-	-	-
Steroid/Terpenoid	-	-	-
Saponin	-	-	-

Keterangan:

(-): tidak ada

(+): ada

Berdasarkan Tabel 2, hasil profil fitokimia fraksi ekstrak buah ara dalam pelarut n-heksana, etil asetat, dan kloroform hanya mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid.

Toksisitas

Uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* telah dilakukan untuk mengetahui adanya kemampuan efek toksisitas ekstrak buah dan fraksinya. Adapun hasil perhitungan LC_{50} diperoleh berdasarkan konversi nilai % mortalitas yang diperoleh dari setiap konsentrasi uji yang dibuat. Nilai LC_{50} menunjukkan kemampuan sampel yang menyebabkan kematian larva *Artemia salina* mencapai 50% sesuai variasi konsentrasi yang digunakan [16], [40]. Adapun nilai-nilai LC_{50} ekstrak buah disajikan pada Tabel 3 berikut:

Tabel 3. Nilai LC_{50} ekstrak buah ara

Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas	LC_{50} (ppm)
50	3,3	218,34
100	6,7	
250	76,7	
500	86,7	
1000	96,7	

Berdasarkan Tabel 3, terlihat bahwa meningkatnya konsentrasi larutan ekstrak buah berbanding lurus dengan adanya peningkatan terhadap nilai % mortalitas larva *Artemia salina*, hal ini bersesuaian dengan teori bahwa semakin meningkat nilai konsentrasi ekstrak uji yang digunakan akan meningkatkan % mortalitas pada larva [41], [42]. Nilai LC_{50} dari ekstrak buah dalam pelarut etanol diperoleh sebesar 218,34 ppm, nilai tersebut masuk dalam kategori toksik. Kemampuan toksisitas fraksi n-heksana disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai LC_{50} fraksi n-heksana

Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas	LC_{50} (ppm)
50	0,0	
100	0,0	
250	36,7	413,57
500	80,0	
1000	96,7	

Berdasarkan Tabel 4, nilai LC_{50} fraksi buah dalam pelarut n-heksana sebesar 413,57 ppm, nilai tersebut masuk dalam kategori toksik [16].

Tabel 5. Nilai LC_{50} fraksi etil asetat

Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas	LC_{50} (ppm)
50	0,0	
100	0,0	
250	66,7	309,51
500	86,7	
1000	100,0	

Berdasarkan Tabel 5, nilai LC_{50} fraksi buah dalam pelarut etil asetat sebesar 309,51 ppm, nilai tersebut masuk dalam kategori toksik [16].

Tabel 6. Nilai LC_{50} fraksi kloroform

Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas	LC_{50} (ppm)
50	0,0	
100	0,0	
250	6,7	314,60
500	80,0	
1000	100,0	

Berdasarkan Tabel 6, nilai LC_{50} fraksi buah dalam pelarut kloroform sebesar 314,60 ppm, nilai tersebut masuk dalam kategori toksik [16].

Berdasarkan nilai LC_{50} yang telah diperoleh, ekstrak buah dan masing-masing fraksi memiliki kemampuan toksik terhadap larva *Artemia salina*. Namun jika dibandingkan dengan nilai LC_{50} yang lain, pada fraksi n-heksana memiliki nilai yang jauh lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak buah ara dan fraksi pelarut lain. Sedangkan semakin kecil nilai LC_{50} akan meningkatkan kemampuan toksisitas suatu sampel uji [16]. Hal ini dapat dimungkinkan oleh perbedaan senyawa metabolit aktif yang diperoleh [43], ada yang lebih mudah diekstrak menggunakan pelarut yang lebih polar dibandingkan pelarut non polar [44]. Pelarut organik seperti etanol pun jauh lebih disukai jika dibandingkan dengan pelarut dengan air, metanol, dan aseton [45] Meskipun adanya asumsi pengaruh jenis kepolaran pelarut yang digunakan, nilai konsentrasi yang digunakan juga berpengaruh, hal tersebut terlihat dari hubungan nilai konsentrasi dan % mortalitas [39].

Kematian hewan uji berupa larva udang akibat adanya ekstrak buah dan fraksi buah tanaman *Ficus racemosa* L. dapat dipicu oleh adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid yang mampu menghambat daya makan larva udang atau adanya

kemungkinan terjadinya keracunan perut yang mengakibatkan proses daya makan larva udang [46]. Hal tersebut menjadi salah satu pemicu kematian yang terjadi pada larva udang *Artemia salina*.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak dan fraksi daun tanaman buah ara berupa senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid. Nilai LC_{50} ekstrak buah ara sebesar 218,34 ppm; fraksi n-heksana sebesar 413,57 ppm; fraksi etil asetat sebesar 309,51 ppm; dan fraksi kloroform sebesar 314,60 ppm. Berdasarkan nilai LC_{50} tersebut menunjukkan bahwa ekstrak buah dan fraksi buah ara memiliki potensi toksik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Pusat Penelitian dan Publikasi Ilmiah LP2M Universitas Islam Negeri Mataram yang telah memberikan dana untuk penyelesaian penelitian ini serta kepada seluruh pihak-pihak lainnya yang telah turut membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Cruz, J. M. dos A., Corrêa, R. F., Lamarão, C. V., Kinupp, V. F., Sanches, E. A., Campelo, P. H., & Bezerra, J. de A. (2022). Ficus spp. fruits: Bioactive compounds and chemical, biological and pharmacological properties. In *Food Research International* (Vol. 152). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110928>.
- [2] Muthukrishnan, S., Senthil Kumar, T., & Rao, M. V. (2017). Anticancer activity of biogenic nanosilver and its toxicity assessment on *Artemia salina*-evaluation of mortality, accumulation and elimination: An experimental report. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(2), 1685–1695. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.03.004>
- [3] Firnanda, F., Bimo Aksono Herupradoto, E., Rahmawati, K., Kurnijasanti, R., Sukmanadi, M., Hidajati, N., & Kedokteran Hewan Dasar, D. (2021). Toxicity Testing of White Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit Extracts Using Brine Shrimp Lethality Test Method as a Candidate of Anti-Cancer Drug. In *Journal of Basic Medical Veterinary* Firnanda et al. Desember 2021, 10(2). <https://ejournal.unair.ac.id/JBMV>.
- [4] World Health Organization (WHO). (2022, February 3). *Cancer*. World Health Organization (WHO). Diakses 15 November 2023, pukul 08.19 WITA.
- [5] Azad, A. K., Azizi, W. S., Ismail, A. F. H., Abbas, S. A., Uddin, J., & Labu, Z. K. (2019). Phytochemical and Toxicity Evaluation of Traditional Herb: *Lagerstroemia speciosa* L. (Banaba) by MCF-7 Cell Line and Brine Shrimp Lethality Bioassay. In *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, 22(1), 45 – 49.
- [6] Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *International Journal of Plant Biology*, 13(1), 4–14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>.
- [7] Shiksharathi, A. R., & Mittal, S. (2011). *Ficus Racemosa: Phytochemistry, Traditional Uses*

- and Pharmacological Properties: A Review. *International Journal of Recent Advances in Pharmaceutical Research* October, 4, 6–15.
- [8] Yadav, S., Gupta, V., Gopalakrishnan, A., Ram Verma, M., & Supriya Yadav, C. (2019). Antioxidant activity analysis of *Ficus racemosa* leaf extract. ~ 1443 ~ *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 7(1), 1443–1446.
- [9] K, K., & AN, A. (2018). The Phytoconstituents and Pharmacological Actions of *Ficus racemosa* Linn (Family: Moraceae) - An updated review. *PharmaTutor*, 6(12), 55. <https://doi.org/10.29161/pt.v6.i12.2018.55>.
- [10] Abusufyan, S., Ibrahim, M., & Mohib, K. (2018). Comparative in vitro antidiabetic and antioxidant activity of various extracts of *Ficus* species. *Pharmacognosy Journal*, 10(2), 349–354.
- [11] Mohiuddin, A. K. (2020). Phytochemical Screening & Biological Investigations of *Ficus Racemosa*. *Open Access Journal of Complementary & Alternative Medicine*, 2(4). <https://doi.org/10.32474/oajcam.2020.02.000145>.
- [12] Limanan, D., Salim, M., Yulianti, E., & Ferdinal, F. (2018). Kapasitas Total Antioksidan dan Sitotoksitas Ekstrak Metanol Daun Ara (*Ficus auriculata* Lour). <https://www.researchgate.net/publication/330511857>.
- [13] Singh, B., & Sharma, R. A. (2023). Updated review on Indian *Ficus* species. In *Arabian Journal of Chemistry*, 16(8), Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104976>.
- [14] Kumar Dubey, P., Yaduwanshi, P., & Gouttam, V. (2018). *Ficus Racemosa* Lin-Gooler a Review. Prashant et al. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7, 325. <https://doi.org/10.20959/wjpr201812-12653>.
- [15] Deep, P., Singh, A. Kr., Ansari, Md. T., & Raghav, P. (2013). Pharmacological Potentials of *Ficus racemosa* - A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 22(1), 29–34.
- [16] Meyer, B. N., Ferrigni, N. A., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents*, 45, 31 – 34.
- [17] Sarah, Q. S., Anny, F. C., & Misbahuddin, M. (2017). Brine shrimp lethality assay. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(2), 186–189. <https://doi.org/10.3329/bjp.v12i2.32796>.
- [18] Simorangkir, M., Nainggolan, B., Juwitaningsih, T., & Silaban, S. (2021). The Toxicity of n-Hexane, Ethyl Acetate, and Ethanol Extracts of *SarangBanua* (*Clerodendrum fragrans* Vent Willd) Leaves by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. *Journal of Physics: Conference Series*. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1811/1/012053>.
- [19] Hassan, M., Tanvir Hossain, M., Morshed Sazib, S., & Zukaul Islam, M. (2020). Research Evaluation of antioxidant activity and brine shrimp lethality bioassay of *Randia dumetorum* stem extract. *North American Academic Research*, 3(01), 1–14.

- [20] Waghulde, S., Kale, M. K., & Patil, VijayR. (2020). *Brine Shrimp Lethality Assay of the Aqueous and Ethanolic Extracts of the Selected Species of Medicinal Plants*. 47. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-23-06703>.
- [21] RaoGolla, U., KumarGajam, P., RahimMohammad, A., KumarK, A., & Sunder RajB, S. (2011). *Assessment of Bioactivity of Desmostachya bipinnata (L.) Stapf Using Brine Shrimp (Artemia salina) Lethality Assay*. *Pharmacologyonline*, 1(3), 982 – 990.
- [22] H, H., Irawan, C., Sirait, S. M., Sulistiawaty, L., & Setyawati, S. R. (2020). Toxicity Test with BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Method on Methanol, Ethyl Acetate Extract, Hexane on Seeds and Rind of Matoa extract (Pometia pinnata). *Oriental Journal of Chemistry*, 36(6), 1143–1147. <https://doi.org/10.13005/ojc/360618>.
- [23] Ntungwe N, E., Domínguez-Martín, E. M., Roberto, A., Tavares, J., Isca, V. M. S., Pereira, P., Cebola, M.-J., & Rijo, P. (2020). Artemia species: An Important Tool to Screen General Toxicity Samples. *Current Pharmaceutical Design*, 26(24), 2892–2908. <https://doi.org/10.2174/1381612826666200406083035>.
- [24] Konan, A. M. L., Golly, K. J., Kra, A. K. M., Adima, A. A., & Lohoues, E. E. C. (2022). Phytochemical Screening and Toxicity Assessment of *Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv. (Poaceae) Raw Extracts with Brine Shrimp (<i>Artemia salina</i>) Lethality Assay. *Journal of Biosciences and Medicines*, 10(08), 153–171. <https://doi.org/10.4236/jbm.2022.108014>.
- [25] Rahamouz-Haghighi, S., Bagheri, K., Sharafi, A., Tavakolizadeh, M., & Mohsen-Pour, N. (2022). Phytochemical screening and Cytotoxicity assessment of *Plantago lanceolata* L. root extracts on Colorectal cancer cell lines and Brine shrimp larvae and determination of the median lethal dose in mice. *South African Journal of Botany*, 149, 740–747. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.06.058>.
- [26] Suryani, N., Munawar, F., & Hajaroh, S. (2022). Phytochemical Screening of Active Secondary Metabolites and Antibacterial Activity Kaffir Lime Leaf (*Citrus hystrix*) and Tumeric Leaf (*Curcuma longa* Linn.) Against *Escherichia coli*. *ALKIMIA: Jurnal Ilmu Kimia Dan Terapan*, 5(2), 150–158. <https://doi.org/10.19109/alkimia.v5i2.11264>.
- [27] Hall, A. M., Baskiyar, S., Heck, K. L., Hayden, M. D., Ren, C., Nguyen, C., Seals, C. D., Monu, E., & Calderón, A. I. (2023). Investigation of the chemical composition of antibacterial *Psidium guajava* extract and partitions against foodborne pathogens. *Food Chemistry*, 403. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134400>.
- [28] Parbuntari, H., Prestica, Y., Gunawan, R., Nurman, M. N., Adella, F., & Padang, N. (2018). Preliminary Phytochemical Screening (Qualitative Analysis) of Cacao Leaves (*Theobroma*

- Cacao L.). *EKSAKTA: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 19(2), 40–45.
<https://doi.org/10.24036/eksakta/vol19-iss02/142>.
- [29] Marinho, T. A., Oliveira, M. G., Menezes-Filho, A. C. P., Castro, C. F. S., Oliveira, I. M. M., Borges, L. L., Melo-Reis, P. R., & Silva-Jr, N. J. (2022). Phytochemical characterization, and antioxidant and antibacterial activities of the hydroethanolic extract of *anadenanthera peregrina* stem bark. *Brazilian Journal of Biology*, 82. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.234476>.
- [30] Visweswari, G., Christopher, R., & Rajendra, W. (2013). Phytochemical Screening of Active Secondary Metabolites Present in *Withania Somnifera* Root: Role in Traditional Medicine. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(7), 2770. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4\(7\).2770-76](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4(7).2770-76).
- [31] Ojah, E. O., Oladele, E. O., & Chukwuemeka, P. (2021). Phytochemical and antibacterial properties of root extracts from *Portulaca oleracea* Linn. (Purslane) utilised in the management of diseases in Nigeria. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*, 5(1). <https://doi.org/10.4102/jomped.v5i1.103>.
- [32] Permana, R., & Andhikawati, A. (2021). Secondary Metabolites Identification and Antioxidant Activity Determination of Crude Extract of *Barringtonia asiatica* L. (kurz) Leaves. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, 51–58. <https://doi.org/10.9734/ajbgmb/2021/v8i330197>.
- [33] Carabelly, A. N., & Aspriyanto, D. (2020). PYTHOCHEMICAL SCREENING OF *Musa acuminata* STEM WATER EXTRACT. *Dentino: Jurnal Kedokteran Gigi*, 5(1), 77. <https://doi.org/10.20527/dentino.v5i1.8127>.
- [34] Sukandar, D., Hermanto, S., & Lestari, D. E. (2009). Uji Potensi Aktivitas Anti Kanker Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).” *Indonesian Journal of Applied Chemistry*, 11(1), 32 – 38.
- [35] Madjos, G. G., & Luceño, A. M. (2019). Comparative Cytotoxic Properties of Two Varieties of *Carica papaya* leaf extracts from Mindanao, Philippines using Brine Shrimp Lethality Assay. In *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*, 8(2), 113 – 118.
- [36] Marliza, H., Oktaviani, D., Analis, A., Putra, K., & Batam, J. (n.d.). Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia gigantea* Hook.f) DENGAN Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). In *Bencoolen Journal of Pharmacy*, 1(1), 38 – 45.
- [37] Susilowati, F. (2017). Uji Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Ekstrak Etil Asetat Spons *Calthropella* sp. Asal Zona Intertidal Pantai Krakal Gunung Kidul Yogyakarta. In *1 Pharmasipha*, 1(1), 01 – 05.
- [38] Gustiana, S., Ayu, B., Mustariani, A., Suryani, N., Gustiana, S., & Mustariani, B. A. A. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Seledri

- (*Apium graveolens* L.) dan Kelor (*Moringa oleifera* L, *Jurnal SPIN*, 4(1), 95–107. <https://doi.org/10.20414/spin.v4i1.5150>.
- [39] Utami, M. R., & Anjani, R. D. (2020). Analisis Fitokimia Dan Toksisitas Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang, Akar Tanaman Simpur (*Dillenia indica* L) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Media Farmasi*, 16(2), 230. <https://doi.org/10.32382/mf.v16i2.1746>.
- [40] Toklo, P. M., Ahomadegbe, M. A., Dah-Nouvlessounon, D., Jouda, J.-B., Tchegnitegni, B. T., Wouamba, S. C. N., Ahoton, D., Assogba, M. F., Tchamgoue, J., Lenta, B. N., Kouam, S. F., Baba-Moussa, L., Ladekan, E. C. Y., & Gbenou, J. D. (2023). LC-MS identification and preliminary pharmacological study of the aqueous and ethanol extracts from *Combretum glutinosum* Perr ex DC. (Combretaceae). *Clinical Complementary Medicine and Pharmacology*, 3(4), 100106. <https://doi.org/10.1016/j.ccmp.2023.100106>.
- [41] Panggabean, L., Handayani, D (2020). Profil Fitokimia Dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan *Zanthoxylum acanthopodium* DC (Andaliman) Menggunakan Metode BSLT. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 4(1), 59–68.
- [42] Parulian Manurung, D., Sundaryono, A., Amir, H., (2020). Penentuan Potensi Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Sikkam (*Bischofia javanica* blume) Sebagai Antioksidan dengan Metode DPPH dan Sitotoksik Dengan Metode BSLT. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 4(1), 83–91.
- [43] Zuraida, Z. (2018). Analisis Toksisitas Beberapa Tumbuhan Hutan Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 36(3), 239–246. <https://doi.org/10.20886/jphh.2018.36.3.239-246>.
- [44] Hasan, N. A., Ariffin, S., Azzeme, A. M., Hasbullah, N. I., Nawahwi, M. Z., & Bin Zemry, I. H. (2023). Preliminary phytochemical screening of medicinal herb, SAMBAU PAYA (*Chloranthus erectus*). *Materials Today: Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.01.365>.
- [45] Akullo, J. O., Kiage-Mokua, B. N., Nakimbugwe, D., Ng'ang'a, J., & Kinyuru, J. (2023). Phytochemical profile and antioxidant activity of various solvent extracts of two varieties of ginger and garlic. *Heliyon*, 9(8). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18806>.
- [46] Nuralifah, N., Parawansah, P., & Nur, H. (2021). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia jasminoides* Ellis) Terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 1(2), 98–106. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v1i2.11462>.