

Uji Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Polong Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Serta Penentuan Nilai IC₅₀ dan LC₅₀

Riwayat artikel:

Diterima: 10 Agustus 2023

Direvisi: 28 Desember 2023

Diterbitkan: 30 Desember 2023

Yolanda Agustina¹, Sugiyanto¹, Venny Kurnia Andika^{1*}

Kata kunci:

Antioksidan;

IC₅₀;

LC₅₀;

Polong cengkeh;

Toksisitas

Indonesia adalah negara penghasil cengkeh terbesar di dunia. Cengkeh merupakan tanaman asli Indonesia yang banyak dimanfaatkan untuk rempah dan obat tradisional. Di dalam cengkeh terkandung 70-96% eugenol golongan antioksidan fenol. Antioksidan adalah metabolit sekunder yang mampu menangkal radikal bebas, seperti sel kanker. Bagian dari cengkeh yang sering dimanfaatkan adalah bunga, daun, dan batangnya. Ada bagian cengkeh yang belum dimanfaatkan, yaitu polong cengkeh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak polong cengkeh yang dinyatakan dalam nilai IC₅₀ dan LC₅₀. Polong cengkeh segar dilakukan ekstraksi metode maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 3x24 jam. Setelah itu, dilakukan remaserasi selama 3x24 jam. Maserat dipisahkan dari pelarutnya untuk mendapatkan ekstrak kental polong cengkeh. Ekstrak polong cengkeh dilakukan uji kadar antioksidan dengan DPPH dan absorbansinya diukur dengan Spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya, ekstrak polong cengkeh memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena nilai IC₅₀ sebesar 11,2574 ppm. Ekstrak polong cengkeh juga dilakukan uji toksisitas metode BSLT. Konsentrasi yang digunakan sebanyak 11 macam dengan 3 kali pengulangan dan 2 kelompok kontrol. Setelah 24 jam pemberian perlakuan, maka didapat persentase mortalitas *Artemia salina*. Hasilnya, ekstrak polong cengkeh bersifat toksik terhadap *Artemia salina* yang dinyatakan dalam nilai LC₅₀ sebesar 370,267 ppm.



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Indonesia merupakan negara penghasil cengkeh terbesar dunia. Pada tahun 2008 sampai 2012, Indonesia telah memproduksi 79,80% cengkeh, lebih banyak dibandingkan Madagaskar yang memproduksi 13,30% cengkeh [1]. Cengkeh banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal guna pengobatan sakit perut, sakit mata, penambah nafsu makan, dan mengatasi kolik [2]. Kandungan utama cengkeh adalah Bagian cengkeh yang sering dimanfaatkan adalah bunga, tangkai bunga, dan daunnya [3]. Ada bagian lain dari cengkeh yang jarang dimanfaatkan, yaitu cengkeh yang sudah tua (ranum) atau polong cengkeh. Cengkeh ini memiliki harga jual yang rendah dan mutunya kurang baik [4]. Di beberapa daerah,

polong cengkeh dimanfaatkan sebagai benih atau bahkan dibuang begitu saja. Di dalam cengkeh banyak terkandung antioksidan golongan fenol, yaitu eugenol sebesar 70-96% [5]. Antioksidan berperan dalam memberikan perlindungan pada tubuh dari berbagai jenis penyakit seperti penyakit degeneratif, kanker, serta membantu menghambat proses penuaan [6]. Kandungan antioksidan yang diduga memiliki aktivitas antikanker adalah flavonoid yang bekerja sebagai penghambat inaktivasi karsinogenesis, inhibisi siklus sel, penghambat angiogenesis, proliferasi sel, dan apoptosis [7]. Flavonoid juga memiliki aktivitas sitotoksik yang memengaruhi pertumbuhan sel kanker [8].

¹Program Studi Farmasi, STIKes Panti Waluya Malang, Malang, Jawa Timur, Indonesia

Email: funnyvenny@gmail.com

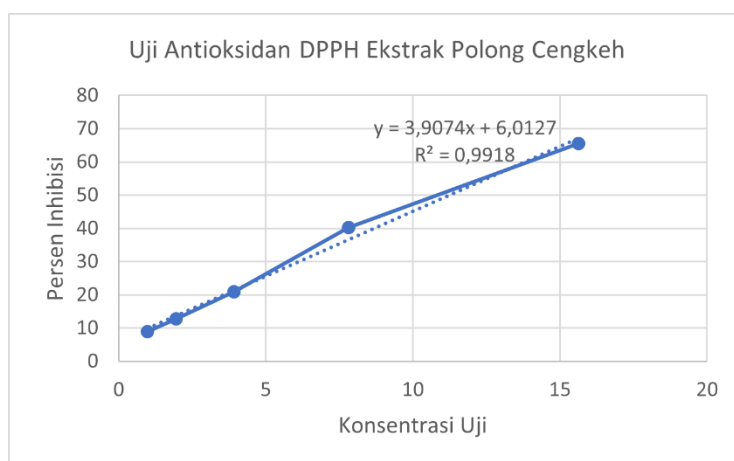
Saat ini, belum ada penelitian mengenai kandungan antioksidan dalam polong cengkeh. Bagian cengkeh yang sudah teruji memiliki antioksidan adalah bunga dan daunnya [9][10]. Maka dari itu, perlu dilakukan uji pendahuluan mengenai kandungan antioksidan yang memengaruhi aktivitas toksisitas pada polong cengkeh.

Hasil dan Pembahasan

Ekstrak polong cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dilakukan uji antioksidan dengan DPPH dan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Nilai absorbansi yang didapat digunakan untuk menghitung inhibisi. Berikut adalah hasil pengukuran absorbansi dan perhitungan inhibisi dari masing-masing konsentrasi sampel uji.

Tabel 1. Hasil Uji Antioksidan DPPH dan Nilai IC₅₀

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi Sampel	Inhibisi	Persen Inhibisi	IC ₅₀
15,6250	0,2669	0,6546	65,4553	11,2574 ppm
7,8125	0,4617	0,4024	40,2424	
3,9063	0,6107	0,2096	20,9575	
1,9531	0,6735	0,1283	12,8293	
0,9766	0,7041	0,0887	8,8688	



Gambar 1. Grafik dan persamaan regresi dari konsentrasi sampel terhadap persentase inhibisi

Nilai absorbansi yang didapat dari masing-masing konsentrasi (**Tabel 1**) digunakan untuk menghitung inhibisi dan persen inhibisi, yaitu menggunakan rumus :

$$[(Ac-As)/Ac] \times 100\%$$

Keterangan :

Ac : nilai absorbansi larutan kontrol

As : nilai absorbansi larutan sampel

Nilai inhibisi dan persen inhibisi ini yang nantinya akan digunakan untuk mencari persamaan regresi guna mendapatkan nilai IC₅₀. Pada **Gambar 1**, tertera

grafik dan persamaan regresi antara konsentrasi uji dengan persen inhibisi ekstrak polong cengkeh. Nilai konstanta dan koefisien dari persamaan regresi dimasukkan ke dalam rumus IC₅₀, yaitu $IC_{50} = \frac{(50-B)}{A}$, dimana B sebagai nilai konstanta dan A sebagai nilai koefisien. Berdasarkan perhitungan tersebut, nilai IC₅₀ ekstrak polong cengkeh sebesar 11,2574 ppm. Semakin kecil nilai IC₅₀, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dalam suatu ekstrak [11]. Menurut Molyneux, suatu ekstrak memiliki kekuatan aktivitas antioksidan sangat potensial jika nilai IC₅₀ < 50 ppm, potensial dengan nilai IC₅₀ sebesar 50-100 ppm, potensial sedang dengan nilai IC₅₀ sebesar 100-250 ppm, dan lemah jika nilai IC₅₀ sebesar 250-500 ppm

[12]. Berdasarkan klasifikasi tersebut, ekstrak polong cengkeh memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat atau potensial. Jika dibandingkan dengan vitamin C, ekstrak polong cengkeh memiliki nilai IC_{50} yang tidak jauh berbeda dari vitamin C. Berdasarkan penelitian terdahulu, nilai IC_{50} dari vitamin C sebesar 8,8084, dimana tergolong sangat kuat atau potensial [13]. Kekuatan aktivitas antioksidan pada polong cengkeh ini dikarenakan adanya tujuh kandungan senyawa aktif didalamnya, yaitu eugenol (80,95%), terpinen-4-ol (0,91%), asam oleic (0,56%), asam octadecanoic (0,44%), thymol (0,44%), linalool (0,12%), dan α -terpineol (0,06%) yang masing-masing memiliki satu gugus fenol [13].

Uji toksisitas ekstrak polong cengkeh dilakukan dengan metode BSLT. Dalam metode ini, hewan uji

yang digunakan adalah *Artemia salina* karena memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap perubahan kondisi lingkungan akibat adanya kontaminasi bahan kimia atau bahan asing lainnya [14]. *Artemia salina* L. yang digunakan adalah larva hasil penetasan setelah 48 jam, dimana pada saat itu *Artemia salina* L. berada pada fase naupli instar II dan III. Pada fase ini, *Artemia salina* L. memiliki struktur anatomi yang masih sangat sederhana, serta kemampuan untuk membelah secara mitosis dengan aktif, identik dengan pembelahan sel kanker [15].

Uji toksisitas ekstrak polong cengkeh dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi uji. Berikut adalah tabel rata-rata kematian *Artemia salina* pada setiap konsentrasi uji, serta persen mortalitasnya.

Tabel 2. Uji Toksisitas Ekstrak Polong Cengkeh Metode BSLT

Konsentrasi	Rata-Rata Larva Mati	Total Larva	Persen Mortalitas
1,9 ppm	0,67	10	6,67
3,9 ppm	1	10	10
7,8 ppm	0,67	10	6,67
15,6 ppm	1,33	10	13,33
31,25 ppm	0,67	10	6,67
62,5 ppm	2,33	10	23,3
125 ppm	1,22	10	13,33
250 ppm	3,33	10	33,33
500 ppm	7	10	70
1000 ppm	10	10	100
2000 ppm	10	10	100

Berdasarkan **Tabel 2**, persentase mortalitas tertinggi ada di konsentrasi 1000 ppm dan 2000 ppm. Hal ini dikarenakan senyawa metabolit sekunder hampir selalu bersifat toksik pada konsentrasi pekat [15]. Persentase mortalitas terendah ada pada konsentrasi 1,9 ppm; 7,8 ppm; dan 31,25 ppm, yaitu 6,67% karena pada konsentrasi rendah hanya sedikit terkandung senyawa metabolit sekunder. Pada penelitian ini juga menggunakan kelompok kontrol positif dan negatif. Larutan pengontrol positif yang digunakan adalah DMSO dan air laut buatan, sedangkan kontrol negatif hanya menggunakan larutan air laut buatan saja. Hasilnya, pada larutan kontrol positif dan negatif

tidak terjadi kematian larva *Artemia salina* karena kematian larva tidak dipengaruhi oleh air laut buatan, melainkan disebabkan oleh ekstrak polong cengkeh yang ditambahkan. Kemudian dilakukan perhitungan probit LC_{50} dengan bantuan SPSS. Di bawah ini merupakan tabel berisikan hasil probit LC_{50} .

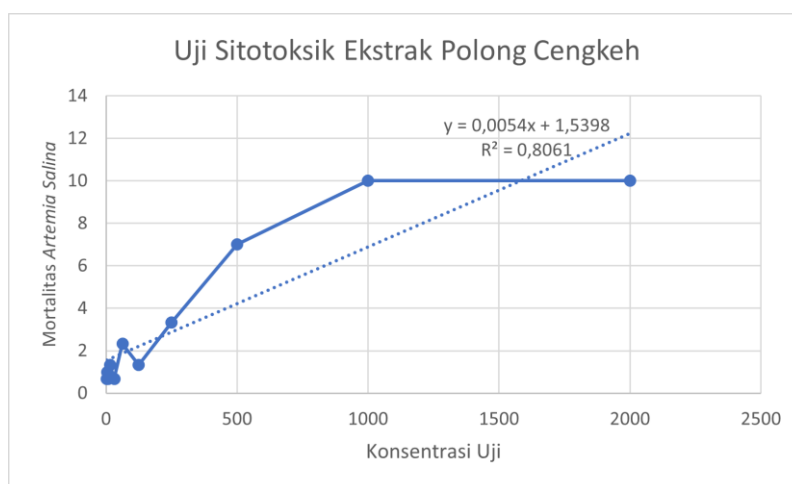
Berdasarkan **Tabel 3**, nilai LC_{50} dari ekstrak polong cengkeh (*Syzygium aromaticum*) adalah 370,267 ppm. Artinya, pada konsentrasi 370,267 ppm telah mampu menyebabkan kematian sebesar 50% dari jumlah populasi hewan uji *Artemia salina* L.

Tabel 3. Analisis Probit LC₅₀

Ekstrak	Konsentrasi (ppm)	Konsentrasi Minimum (ppm)	Konsentrasi Maksimum (ppm)
Ekstrak etanol polong cengkeh	370,267	166,841	531,405

Pada **Tabel 3** juga ditampilkan data konsentrasi minimum (*Lower Bound*) sebesar 166,841 ppm dan konsentrasi maksimum (*Upper Bound*) sebesar 531,405 ppm. Data ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 166,841 ppm (*Lower Bound*) terlalu rendah untuk menyebabkan kematian *Artemia salina* L. sebesar 50%, sedangkan pada konsentrasi 531,405 ppm (*Upper Bound*) terlalu tinggi untuk menyebabkan kematian *Artemia salina* L. sebesar 50%. Berdasarkan nilai LC₅₀, ekstrak etanol polong cengkeh (*Syzygium aromaticum*) menunjukkan adanya toksisitas. Suatu ekstrak dengan nilai LC₅₀ ≤ 30 mg/L memiliki toksisitas yang tinggi (sangat toksik); nilai LC₅₀ 1.000 mg/L memiliki toksisitas; LC₅₀ > 1.000 mg/L tidak toksik [16]. Uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) digunakan sebagai uji pendahuluan

pada penelitian yang mengarah pada uji toksisitas lanjutan [17]. Meskipun demikian, suatu ekstrak mengindikasikan adanya toksisitas kuat dan berpotensi dilakukan analisis lanjutan bila harga LC₅₀ bernilai < 100 ppm [18]. Salah satu faktor yang memengaruhi nilai LC₅₀ adalah pelarut. Pada penelitian terdahulu dilakukan uji aktivitas sitotoksik ekstrak selada merah dalam berbagai pelarut, seperti etanol, metanol, etil asetat, dan n-heksana. Hasilnya adalah ekstrak n-heksana memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap *Artemia salina* L. dibandingkan dengan ekstrak etanol, metanol, dan etil asetat [19]. Hal ini dipengaruhi oleh ukuran dan sifat kepolaran molekul zat aktif dari ekstrak [15]. Pelarut yang sesuai dengan kepolaran kandungan fitokimia ekstrak akan lebih mudah dalam menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder yang potensial sebagai sitotoksik [19].



Gambar 2. Grafik dan persamaan regresi antara konsentrasi dengan mortalitas *Artemia salina* L.

Dari data mortalitas *Artemia salina* L. juga didapat persamaan regresi yang ditampilkan pada **Gambar 2**. Regresi linier menentukan satu persamaan dan garis yang menunjukkan adanya hubungan antara variabel bebas (X) dan variabel tidak bebas/*response* (Y) [20]. Persamaan regresi yang diperoleh adalah $y = 1,5398 + 0,0054x$, dengan *R square* sebesar 0,806 atau 80,6%. Berdasarkan hasil penelitian, ditemukan adanya

korelasi yang sangat kuat antara konsentrasi (X) dengan mortalitas *Artemia salina* L (Y), yaitu sebesar 80,6% (*R square* = 0,806). Nilai kekuatan korelasi dapat dikelompokkan sebagai berikut : 0,41-0,70 korelasi kuat; 0,71-0,90 korelasi sangat kuat; 0,91-0,99 korelasi sangat kuat sekali; 1 berarti sempurna [21]. Kematian *Artemia salina* L. tersebut disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang bersifat

toksik. Jenis metabolit sekunder yang banyak terkandung dalam cengkeh adalah senyawa fenolik seperti flavonoid, asam hidroksibenzoat, asam hidroksisinamat, dan hidroksifenil propens, serta eugenol sebagai senyawa bioaktif utama cengkeh [22]. Senyawa metabolit sekunder tersebut diduga bersifat toksik terhadap *Artemia salina* L., terutama senyawa flavonoid yang pada kadar tertentu memiliki tingkat toksisitas akut [23]. Adanya flavonoid dalam sel menyebabkan pecahnya membran sel karena gugus OH⁻ pada flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel, sehingga menghambat transport aktif Na⁺ dan K⁺. Penghambatan ini berdampak pada pemasukan ion Na⁺ yang tidak terkendali ke dalam sel dan menyebabkan pecahnya membran sel atau kematian sel [16]. Selain itu, flavonoid dapat menghambat saluran pencernaan dan reseptor perasa *Artemia salina* L. sehingga larva gagal mendapatkan stimulus rasa dan tidak dapat mengenali makanannya, akibatnya larva mati kelaparan [17].

Kesimpulan

Ekstrak polong cengkeh (*Syzygium aromaticum*) tergolong memiliki aktivitas toksisitas yang dinyatakan dalam nilai LC₅₀ sebesar 370,267 ppm. Ekstrak polong cengkeh (*Syzygium aromaticum*) juga memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 11,2574 ppm.

Bahan dan Metode

Alat

Pisau dapur, talenan, gelas beker, batang pengaduk, oven, Loyang, kertas roti, blender, toples kaca, spektrofotometer UV-VIS, aerator, ember, vial, cawan petri, pipet tetes, kertas saring, corong kaca, rotary evaporator.

Bahan

Polong cengkeh segar, etanol 70%, bibit *Artemia salina* Leach, garam, DPPH, dan DMSO.

Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Polong segar disortasi dan dikupas menggunakan pisau. Kulit dan polong cengkeh dipisahkan. Polong cengkeh dibersihkan dari lender yang masih menempel, lalu ditiriskan. Polong cengkeh ini dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50-60°C selama 2x24 jam. Simplisia yang sudah kering ini

dilakukan uji kadar air hingga mencapai persentase 10%. Kemudian, simplisia kering ini dihaluskan menggunakan blender. Serbuk simplisia diekstraksi dengan metode maserasi, pelarut etanol. Serbuk simplisia dimasukkan dalam toples kaca, lalu dilarutkan dalam etanol 70%. Setelah itu, aduk campuran dengan batang pengaduk hingga homogen, kemudian tutup toples rapat-rapat. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dengan frekuensi pengadukan 3-4 kali sehari. Setelah 3x24 jam, dilanjutkan dengan penyaringan sehingga diperoleh maserat etanol. Ampas penyaringan dimaserasi kembali selama 3x24 jam. Maserat dikentalkan menggunakan *rotary evaporator*.

Uji Toksisitas Metode BSLT

Mula-mula, buatlah air laut buatan dengan salinitas 20.000 ppm dengan cara melarutkan 20 gram garam ke dalam 1000 mL air, homogenkan hingga larut. Air laut buatan ini digunakan sebagai media penetasan *Artemia salina* L. Kista larva udang *Artemia salina* sebanyak 0,5 gram ditetaskan dalam 1000 mL air laut buatan (salinitas 20.000 ppm) selama 48 jam di bawah pencahayaan yang cukup dan dilengkapi aerator. Buatlah air laut buatan dengan salinitas 20.000 ppm sebagai pelarut larutan induk. Timbang 20 gram garam dan larutkan dalam 1000 ml *aquadest*. Kemudian, membuat larutan induk 2000 ppm dengan cara menimbang 0,2 gram ekstrak kental polong cengkeh dan dilarutkan dalam 100 ml air laut buatan. Dari larutan induk 2000 ppm ini dilakukan pengenceran menjadi 1000 ppm; 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,25 ppm; 15,6 ppm; 7,8 ppm; 3,9 ppm; dan 1,9 ppm. Untuk kelompok kontrol positif menggunakan media air laut buatan dan DMSO sebanyak 2 ml, sedangkan kelompok kontrol negatif hanya menggunakan media air laut buatan. Kedua kelompok kontrol ini tidak diberikan perlakuan (ekstrak polong cengkeh). Masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam vial 5 mL dan direpetisi sebanyak 3 kali. Setelah 48 jam, larva udang yang telah menetas dipipet sebanyak 10 ekor dan dimasukkan ke dalam botol vial 5 mL yang sudah diberi label, baik vial berisi larutan induk intervensi maupun kontrol. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam pasca larva udang I dimasukkan ke dalam vial. Observasi jumlah kematian larva udang dalam setiap vial dan selanjutnya dianalisis probit untuk mengetahui nilai LC₅₀.

Uji Antioksidan DPPH dan Perhitungan IC₅₀

Tahap awal dimulai dengan pembuatan larutan DPPH. Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 0,39432 gram. Kemudian, dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan beri etanol p.a sampai tanda batas. Larutan DPPH 0,1 M dipipet 100 µl dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Tambahkan etanol p.a sampai tanda batas pada labu ukur 100 ml. Larutan DPPH 0,1 mM diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Setelah inkubasi, larutan DPPH 0,1 mM dilakukan screening panjang gelombang maksimum 500-530 nm. Tahap selanjutnya adalah pembuatan larutan uji. Timbang dengan seksama 25 mg sampel dan masukkan dalam

labu 25 ml. Tambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Seri konsentrasi yang dibuat adalah 500 ppm; 250 ppm; 125 ppm; 62,5 ppm; 31,25 ppm; 15,625 ppm. Larutan uji yang telah dibuat dimasukkan ke dalam botol vial sebanyak 1 ml. Tambahkan 1 ml larutan DPPH 0,1 mM ke dalam vial tersebut. Inkubasi larutan selama 30 menit. Pastikan bahwa seluruh bagian vial tertutup oleh alumunium foil dan terhindar dari paparan sinar matahari. Setelah 30 menit, larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai absorbansi ini digunakan untuk mendapatkan nilai persen inhibisi. Kemudian, dibuat kurva kalibrasi dan hitung nilai IC₅₀.

Daftar Pustaka

1. Suparman, Nurhasanah & Papuangan, N. Analisis pengelompokan varietas cengkeh (*Syzygium aromaticum*(L.) Merril & Perry)) Berdasarkan Kemiripan Morfometrik Di Pulau Ternate. *Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya* **4**, 41–52 (2017).
2. Pratama, M., Razak, R. & Rosalina, V. S. Analisis Kadar Tanin Total Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* **6**, 368–373 (2019).
3. Wahyulianingsih, W., Handayani, S. & Malik, Abd. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* **3**, 188–193 (2016).
4. Pattipeilohy, J. J. Sistem Penangkapan Ikan Tradisional Masyarakat Nelayan di Pulau Saparua. *Jurnal Penelitian* **7**, 1–47 (2013).
5. Nirmala, Y. Studi Literatur: Peluang Penambahan Antioksidan Dari Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Dan Kunyit (*Curcuma Longa*) Untuk Mengatasi Ketengikan Pada Minyak Nabati. **152**, 28 (2020).
6. Maningkas, P., Pandiangan, D. & Kandou, F. Uji Antikanker dan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.) Anticancer and Antioxidant Test of Methanol Extract of Epazote leaves (*Dysphania ambrosioides* L.). *Jurnal Bios Logos* **9**, 102 (2019).
7. Hasyim Ibroham, M. *et al.* Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ Website: <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit> A Review: Potensi Tumbuhan-Tumbuhan Di Indonesia Sebagai Antioksidan Alami. (2020).
8. Setiawan, S. I., Safitri, E. I., Hidayati, D. N. & Muna, L. N. Aktivitas Sitotoksik dan Induksi Apoptosis dari Ekstrak Etanol Kulit Apel Hijau (*Pyrus malus* L.) terhadap Sel MCF-7. *Jurnal Pharmascience* **8**, 69 (2021).
9. Safitri, Y. D. & Purnamawati, N. E. D. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Methanol Gagang dan Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Sains dan Kesehatan* **3**, 410–416 (2021).
10. Mu'nisa, A., Wresdiyati, T. & Nastiti Kusumorini, W. M. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Cengkeh (Antioksidant Activity Of Clove Leaf Extract). *Jurnal Veteriner* **13**, 272–277–277 (2012).
11. Syarif, U. I. N. *et al.* Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum* Linn) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). (2013).
12. Sugiyanto, S., Sodikin, M. A. & Tindaon, Sr. L. V. Kadar Flavonoid Serta Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji Buah Kedondong (*Spondias dulcis*) Dengan Pemanasan Temperatur 60 C, 80 C, 100 C Dengan Metode DPPH. *Media Farmasi* **18**, 109 (2022).
13. Ridho, E. Al. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Naskah Publikasi* (2013).
14. Wahyu Ningdyah, A., Hairil Alimuddin, A. & Jayuska, A. Uji Toksisitas Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Terhadap Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Tampoi (*Baccaurea Macrocarpa*). **4**, 75–83 (2015).
15. Rizqiyah, A. H. Uji Sitotoksik Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan Variasi Pelarut Melalui Metode BSLT dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. 1–140 (2014).
16. Sumihe, G., Runtuwene, M. R. J. & Rorong, J. A. Analisis Fitokimia Dan Penentuan Nilai Lc50 Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains* **14**, 125 (2014).
17. Kurniawan, H. & Ropiqa, M. 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**, 52–62 (2021).
18. Fadhly, E., Kusriani, D. & Fachriyah, E. Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Daun Rivina humilis L. serta Uji Sitotoksik Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* **18**, 67–72 (2015).
19. Rohmah, J., Rini, C. S. & Wulandari, F. E. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Selada Merah (*Lactuca sativa* var. Crispa) Pada Berbagai Pelarut Ekstraksi. *Jurnal Kimia Riset* **4**, 18 (2019).
20. Bhirawa, W. T. Proses Pengolahan Data Dari Model Persamaan Regresi Dengan Menggunakan Statistical Product and Service Solution (SPSS). *Statistika* 71–83 (2020).
21. Jaelani, T., Rasyidin & Tamsah, H. The Influence Style Leadership , Discipline and Motivation towards The Performance of Nurses at The Islamic Hospital in Makassar. *Journal Of Management* **1**, 79–90 (2018).

22. Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F. & Oliveira, W. P. Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **4**, 90–96 (2014). Menggunakan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test) Dari Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jkpk* **1**, 41–47 (2016).
23. Agustina, W., Setyowati, E., Muhammad, D. & Cahyanto, A. S. Kandungan Kimia Dan Uji Aktivitas Toksik