

Penentuan Toksisitas Ekstrak Kulit Naga Merah dan Kulit Apel Manalagi Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Riwayat artikel:

Diterima: 26 Oktober 2023

Direvisi: 26 Desember 2023

Diterbitkan: 30 Desember 2023

Venny Kurnia Andika^{1*}, Ani Riani Hasana¹, Yushinta Elsa Valina¹**Kata kunci:***Artemia salina*;

BSLT;

Hylocereus polyrhizus;

Kulit Apel Manalagi;

Kulit Buah Naga;

Malus sylvestris

Sebanyak 30-35% dari bagian buah merupakan kulit buah yang seringkali terbuang dan belum dimanfaatkan secara maksimal, padahal mengandung senyawa yang sifatnya berkhasiat bagi kesehatan. Buah naga merah dan apel manalagi merupakan buah-buahan yang rutin dikonsumsi masyarakat untuk kesehatan karena mengandung antioksidan yang tinggi. Kulit buah naga merah kaya akan antosianin yaitu pigmen merah alami yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan, sedangkan kulit buah apel tinggi akan flavonoid yang menunjukkan tingginya aktivitas antioksidan. Saat ini telah banyak minuman kesehatan yang memanfaatkan bagian dari tanaman maupun buah untuk dijadikan sebagai terapi kesehatan sehingga perlu dilakukan pengujian yang bertujuan untuk menentukan khasiat serta keamanan produk. Metode yang dapat dilakukan adalah pengujian dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) untuk menentukan tingkat toksisitas suatu sampel yang diukur terhadap kematian *Artemia salina*. Pengujian dilakukan dengan mengukur toksisitas ekstrak kulit buah naga dan ekstrak kulit apel manalagi terhadap mortalitas *Artemia salina* dengan menentukan nilai LC_{50} dari masing-masing ekstrak sampel. Nilai LC_{50} ekstrak etanol 70% kulit buah naga merah yang diujikan pada larva *Artemia salina* sebesar 39,82479812 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai LC_{50} ekstrak etanol 70% kulit apel Manalagi yang diujikan larva *Artemia salina* sebesar 61,3205876 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji toksisitas menyatakan bahwa kedua sampel ekstrak tersebut termasuk dalam kategori toksik.



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/>).

Sebanyak 30-35% dari bagian buah merupakan kulit buah yang seringkali terbuang dan belum dimanfaatkan secara maksimal, padahal pada bagian kulit buah dapat mengandung senyawa yang sifatnya berkhasiat bagi kesehatan. Jenis buah-buahan yang rutin dikonsumsi masyarakat untuk kesehatan karena mengandung antioksidan yang tinggi adalah buah naga dan buah apel. Kedua jenis buah-buahan ini dikonsumsi dengan mengambil bagian daging buahnya, sedangkan kulit buah misalnya buah naga seringkali dibuang sebagai sampah dan belum dimanfaatkan secara optimal[1]. Kulit buah naga merah kaya akan antosianin yaitu pigmen merah alami[2] yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan[3]. Bagian pada buah apel yang paling

banyak mengandung flavonoid adalah bagian kulit apel yang menunjukkan tingginya aktivitas antioksidan [4].

Ekstrak etanol kulit buah naga mengandung senyawa tanin, saponin dan alkaloid, dimana ketiga senyawa tersebut diketahui memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan antibakteri pada kulit buah naga yang cukup tinggi mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen, dimana hasil penelitian menunjukkan bahwa kulit buah naga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan diameter hambat mencapai 6 mm pada konsentrasi 10% dan mencapai penghambatan maksimal mencapai 12 mm pada konsentrasi 80% dan 100% [5].

¹ Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Panti Waluya Malang, Yulius Usman no. 62, Kasin, Klojen, Malang, Jawa Timur 65117, Indonesia

Email: funnyvenny@gmail.com

Dari hasil penelitian juga diketahui bahwa ekstrak metanol kulit apel manalagi mengandung senyawa aktif diantaranya adalah flavonoid, terpenoid, polifenol, tanin dan saponin dan efektif dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada konsentrasi 60.000 µg/mL[6]. Ekstrak etanol kulit apel manalagi juga diketahui menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang merupakan penyebab penyakit gigi dan mulut[7]. Kulit apel juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* [7].

Terapi kesehatan dengan mengkonsumsi minuman kesehatan yang berasal dari bagian batang, daun dan akar tumbuhan ataupun bagian dari buah seperti kulit buah, daging buah maupun biji buah telah banyak dilakukan oleh masyarakat. Telah banyak beredar minuman kesehatan seperti tisane ataupun minuman herbal yang belum teruji keamanannya. Pengujian perlu dilakukan untuk menentukan khasiat serta keamanan produk. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode pengujian untuk menentukan tingkat toksisitas suatu sampel yang diukur terhadap kematian *Artemia salina*. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur toksisitas ekstrak kulit buah naga dan ekstrak kulit apel manalagi serta membandingkan aktivitas sitotoksik kedua ekstrak tersebut terhadap mortalitas *Artemia salina* dengan menentukan nilai LC₅₀ dari masing-masing ekstrak sampel.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan bagian dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*). Keaslian spesies tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dibuktikan dengan hasil determinasi terhadap tanaman buah naga merah dengan nama latin *Hylocereus polyrhizus* dan tanaman apel manalagi dengan nama latin *Malus sylvestris*. Determinasi dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu.

Kulit buah naga dan kulit apel manalagi yang telah dibersihkan dan telah dipisahkan dari bagian daging buahnya dibersihkan dan diiris tipis dengan ketebalan 1-2 mm kemudian dikeringkan di oven

pada suhu 50°C selama 3 x 24 jam. Simplisia dikeringkan untuk mengurangi kadar air pada simplisia. Jumlah kadar air sebaiknya tidak lebih besar dari 10% untuk mencegah terjadinya proses enzimatik dan kerusakan oleh mikroba yang dapat menyebabkan pertumbuhan jamur dan bakteri yang dapat menyebabkan simplisia menjadi busuk dan mengganggu kestabilan senyawa di dalamnya[8]. Pengeringan dengan oven diatur pada suhu 50°C untuk menjaga kualitas senyawa simplisia. Pengeringan dengan suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan perubahan biokimia sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan [9]. Bagian kulit buah naga dipilih karena mengandung senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan seperti antosianin, pektin, dan *dietary fiber*. Berdasarkan hasil uji fitokimia menunjukkan adanya antioksidan, berupa vitamin c, flavonoid, tanin, alkaloid, streoid, dan saponin. Kulit apel manalagi memiliki kandungan zat aktif yang terdiri dari polifenol, fitokimia turunan polifenol (terdiri dari katekin, kuersetin, dan asam klorogenik), dan flavonoid. Kandungan zat aktif ini dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri maupun antifungi, dimana dengan aktivitas dari kandungan ini dapat merusak membran sel dari mikroorganisme[7].

Simplisia yang telah kering kemudian diserbukkan dengan menggunakan *grinder* yang bertujuan untuk memperkecil ukuran simplisia dan memperluas kontak antara serbuk dan pelarut sehingga memaksimalkan penyarian. Serbuk simplisia kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan pelarut : simplisia 7:1 untuk kulit buah naga dan 10:1 untuk kulit apel Malang. Remaserasi dilakukan sebanyak dua kali untuk memaksimalkan penyarian. Setelah penyarian selesai, maserat disaring dengan menggunakan corong *Buchner* dan filtrat dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dikeringkan dengan cara diuapkan di *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental yang siap digunakan untuk pengujian selanjutnya. Rendemen masing-masing ekstrak kental dihitung dan diperoleh nilai rendemen ekstrak etanol 70% kulit buah naga merah sebesar 14,02% dan kulit apel manalagi sebesar 12,29% (**Tabel 1**).

Tabel 1. Nilai rendemen ekstrak etanol 70% kulit buah naga merah dan kulit apel manalagi

Maserat	Bobot simplisia (g)	Bobot ekstrak (g)	Nilai rendemen (%)
Kulit buah naga dalam etanol 70%	604,56	84,76	14,02
Kulit apel dalam etanol 70%	133	16,3436	12,29

Uji toksisitas sampel menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Larva *Artemia salina* berumur 48 jam setelah penetasan diujikan pada ekstrak kulit buah naga merah dan ekstrak kulit apel manalagi dengan 11 konsentrasi bertingkat (1,9 ppm, 3,9 ppm, 7,8 ppm, 15,6 ppm, 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm). Uji toksisitas BSLT dilakukan untuk mengetahui toksisitas senyawa yang terkandung dalam ekstrak dengan melakukan perhitungan LC_{50} . Pengamatan kematian larva udang dilakukan setelah 24 jam pasca perlakuan. Setelah 24 jam larva yang menunjukkan tanda kehidupan dihitung. Karakteristik larva yang hidup ditandai dengan pergerakan dari larva. Setelah mengetahui jumlah larva yang hidup dapat ditentukan jumlah larva yang mati dan persentase

kematian (mortalitas) larva masing-masing konsentrasi perlakuan dan kontrol. Persentase kematian larva artemia kemudian dianalisis menggunakan analisis probit secara manual untuk menghitung harga LC_{50} . Perhitungan analisis probit secara manual dilakukan dengan cara melakukan transformasi nilai konsentrasi menjadi *log* konsentrasi sebagai nilai *x*. Selanjutnya untuk menentukan nilai *y* maka % kematian (mortalitas) ditransformasikan menjadi nilai probit (tabel probit) kemudian dianalisis regresi menggunakan *excel*. Setelah persamaan didapatkan, maka nilai LC_{50} dapat ditentukan dengan menghitung nilai *x* dengan nilai $y=5$. Nilai *y* tersebut diperoleh dari nilai probit 50%. Nilai *x* yang diperoleh kemudian dicari *antilog*-nya untuk mendapatkan nilai LC_{50} .

Tabel 2. Jumlah kematian larva *Artemia salina* setelah terpapar ekstrak (24 jam)

Perlakuan	Konsentrasi Pengujian (ppm)										
	2000	1000	500	250	125	62,5	31,25	15,6	7,8	3,9	1,9
Ekstrak etanol 70% KBN (1)	10	10	9	9	6	1	1	1	2	1	1
Ekstrak etanol 70% KBN (2)	10	10	8	7	6	2	6	5	2	2	0
Ekstrak etanol 70% KBN (3)	10	10	8	7	7	5	0	0	2	2	0
Ekstrak etanol 70% KBA (1)	10	10	9	9	6	3	2	2	2	1	0
Ekstrak etanol 70% KBA (2)	10	10	8	7	6	5	3	2	1	1	0
Ekstrak etanol 70% KBA (3)	10	10	8	7	7	5	2	2	2	0	0
Kontrol 1.1	0										
Kontrol 1.2	0										
Kontrol 1.3	0										
Kontrol 2.1	0										
Kontrol 2.2	0										
Kontrol 2.3	0										

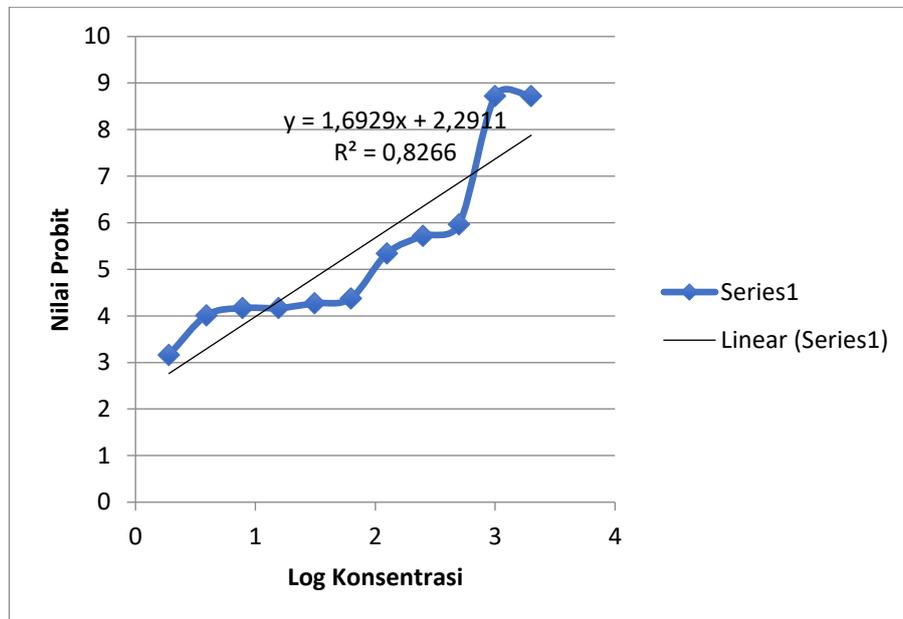
Keterangan : KBN = Kulit Buah Naga, KBA = Kulit Apel Manalagi

Tabel 3. Nilai probit dan persentase rata-rata mortalitas *Artemia salina*

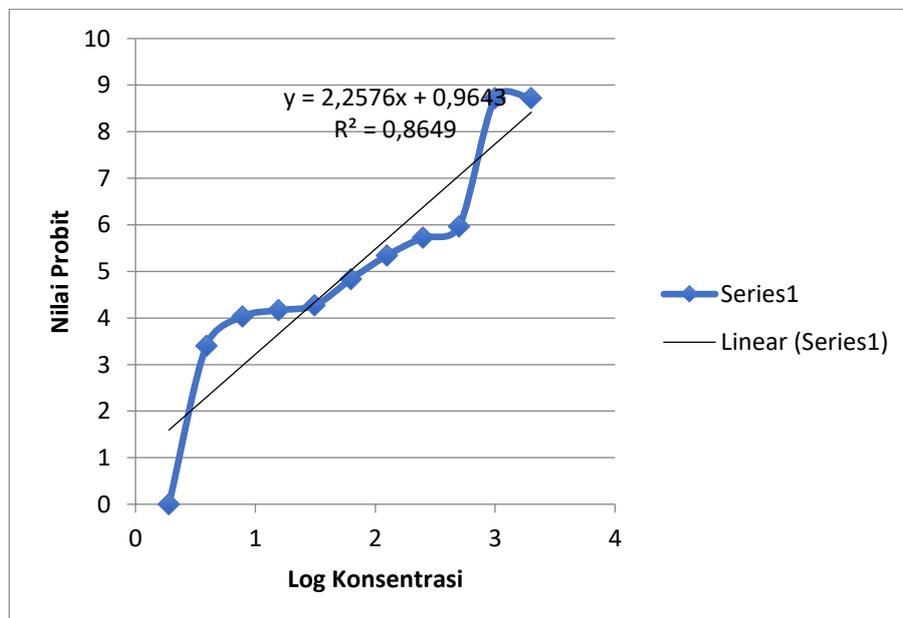
Konsentrasi (ppm)	Rata-rata mortalitas		Kematian larva (%)		Log konsentrasi		Nilai Probit	
	KBN	KBA	KBN	KBA	KBN	KBA	KBN	KBA
2000	10	10	100	100	3,301029996	3,301029996	8,719	8,719
1000	10	10	100	100	3	3	8,719	8,719
500	8,33	8,33	83,33	83,33	2,698970004	2,698970004	5,9661	5,9661
250	7,67	7,67	76,67	76,67	2,397940009	2,397940009	5,72	5,7257
125	6,33	6,33	63,33	63,33	2,096910013	2,096910013	5,3398	5,3398

62,5	2,67	4,33	26,67	43,33	1,795880017	1,795880017	4,3781	4,8313
31,25	2,33	2,33	23,33	23,33	1,494850022	1,494850022	4,271	4,271
15,6	2	2	20	20	1,193124598	1,193124598	4,1684	4,1684
7,8	2	1,67	20	16,67	0,892094603	0,892094603	4,1684	4,0299
3,9	1,67	0,67	16,67	16,67	0,591064607	0,591064607	4,01	3,4037
1,9	0,33	0	3,33	0	0,278753601	0,278753601	3,1616	0

Keterangan : KBN = Kulit Buah Naga, KBA = Kulit Apel Manalagi



Gambar 1. Hasil analisis probit ekstrak etanol 70% kulit buah naga merah



Gambar 2. Hasil analisis probit ekstrak etanol 70% kulit apel manalagi

Tabel 4. Nilai LC₅₀ ekstrak etanol kulit buah naga merah dan ekstrak etanol kulit apel manalagi

Sampel	Nilai LC ₅₀
Kulit buah naga merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	39,82479812 µg/mL
Kulit apel manalagi (<i>Malus sylvestris</i>)	61,3205876 µg/mL

Hasil perhitungan nilai LC₅₀ menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga merah yang diujikan pada larva *Artemia salina* menunjukkan bahwa kulit buah naga merah bersifat toksik dengan nilai toksisitas sebesar 39,82479812 µg/mL. Sedangkan nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol kulit apel manalagi adalah sebesar 61,3205876 µg/mL dan masuk dalam kategori toksik. Hal ini menandakan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak kulit buah naga merah dan ekstrak kulit apel manalagi mempunyai bioaktivitas yang cukup tinggi. Suatu ekstrak tanaman dianggap sebagai bioaktif apabila ekstrak tersebut memiliki nilai LC₅₀ lebih kecil atau sama dengan 1000 mg/L [10]. BSLT telah digunakan oleh peneliti *National Cancer Institute* (NCI) di Amerika untuk metode *pre-screening* dalam penelitian pengembangan obat kanker. Disamping cepat, mudah, dan murah, BSLT juga mempunyai korelasi positif dengan aktivitas antitumor. Karena adanya korelasi positif ini, BSLT direkomendasikan sebagai metode *pre-screening* yang efektif untuk melihat efek sitotoksik dan antitumor[11].

Kematian *Artemia salina* akibat paparan ekstrak etanol 70% kulit buah naga merah dan paparan ekstrak etanol 70% kulit apel manalagi setelah 24 jam menunjukkan nilai LC₅₀ yang masuk dalam kategori toksik. Suatu senyawa dikatakan toksik jika mempunyai nilai LC₅₀ yang masuk dalam rentang 30-1000 ppm[12].

Kulit buah naga merah mengandung senyawa-senyawa yang bersifat toksik. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstraksi dengan pelarut diklorometana diketahui memiliki nilai toksisitas yang cukup tinggi dengan nilai LC₅₀ 10.32±0.13 µg/mL dan dikategorikan sangat toksik, dan nilai IC₅₀ terhadap *cell lines* SK-OV-3 sebesar 560.86±0.63 µg/mL masuk dalam kategori toksisitas lemah, sehingga berpotensi sebagai senyawa antikanker. Ekstrak diklorometana dan ekstrak n-heksan kulit buah naga masing-masing diketahui memiliki potensi

sebagai antiplasmodial dengan nilai IC₅₀ 2.13±0.42 dan 6.51±0.49 µg/mL[13]. Penelitian BSLT dengan menggunakan ekstrak kulit buah naga dengan fraksi air memperoleh nilai LC₅₀ sebesar 451,855 ppm, ekstrak fraksi etil asetat adalah 374,024 ppm, dan ekstrak fraksi n-heksana adalah 312,176 ppm yang secara keseluruhan tergolong toksik moderat (sedang). Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak fraksi air kulit buah naga mengandung alkaloid, fenolik dan saponin. Ekstrak fraksi etil asetat kulit buah naga mengandung fenolik dan flavonoid sedangkan fraksi n-heksana kulit buah naga mengandung triterpenoid[14]. Flavonoid dapat membentuk kompleks dengan protein sehingga memiliki kemampuan untuk merusak membran sel dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga terjadi lisis dan penetrasi zat aktif ke dalam inti sel. Flavonoid sebagai metabolit sekunder yang penting bagi tanaman memiliki peran penting dalam biokimia dan fisiologi tumbuhan karena bersifat antioksidan penghambat enzim dan prekursor bagi komponen toksik yang terkandung dalam tumbuhan[15]. Hasil pengujian BSLT menggunakan ekstrak kulit apel manalagi diketahui memiliki nilai LC₅₀ yang tergolong dalam kategori toksik dengan nilai LC₅₀ 61,3205876 µg/mL. Kulit apel manalagi memiliki kandungan zat aktif yang terdiri dari polifenol, fitokimia turunan polifenol (terdiri dari katekin, kuersetin, dan asam klorogenik), dan flavonoid. Selain mengandung polifenol, kulit apel manalagi juga diketahui terdapat senyawa golongan alkaloid dan terpenoid. Bioaktivitas senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol 70% kulit apel manalagi berkaitan dengan kandungan zat aktif yang terdapat dalam ekstrak. Kandungan zat aktif ini dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri maupun antifungi, dimana dengan aktivitas dari kandungan ini dapat merusak membran sel dari mikroorganisme [7].

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kulit buah naga dan kulit apel manalagi memiliki aktivitas sitotoksik dengan tingkat toksisitas masing-masing ekstrak yang diujikan pada larva *Artemia salina* masuk dalam kategori toksik

Nilai LC_{50} ekstrak etanol 70% kulit buah naga merah yang diujikan pada larva *Artemia salina* sebesar 39,82479812 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai LC_{50} ekstrak etanol 70% kulit apel Manalagi yang diujikan larva *Artemia salina* sebesar 61,3205876 $\mu\text{g/mL}$

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Pisau dapur, talenan, oven, gerinda, timbangan analitik, peralatan gelas (Erlenmeyer, *beaker glass*, spatula, gelas ukur, corong, pipet, tabung reaksi), wadah maserasi, *rotaryevaporator*, kipas angin, waterbath, cawan petri, *counter*, senter, *vial*, pipa kapiler, pinset, *yellow tip*, *magnetic stirrer*, aerator, desikator dan corong *Buchner*. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*), etanol 70%, akuades, garam krosok, kista *Artemia salina*.

Determinasi Sampel Penelitian

Determinasi sampel penelitian dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu. Bagian dari tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan kulit apel manalagi (*Malus sylvestris*).

Preparasi Sampel

Simplisia segar kulit buah naga merah dan kulit buah apel dibersihkan dari sisa-sisa kotoran yang menempel dan diiris tipis-tipis dengan ketebalan 1-2 mm kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 50 °C selama 3x 24 jam hingga bobot menyusut 80-90% dari berat sebelumnya. Setelah kering simplisia kemudian dihaluskan menjadi serbuk.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan cara masing-masing serbuk kering simplisia disari dalam wadah berpenutup menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan simplisia dan

pelarut adalah 1:7 (simplisia kulit buah naga) dan 1:10 (simplisia kulit apel) selama 3 x 24 jam dengan pengadukan 3-4 kali sehari, dilanjutkan dengan penyaringan sehingga diperoleh ampas maserasi etanol 70%. Ampas hasil penyarian diremaserasi sebanyak dua kali lagi untuk memaksimalkan penyarian. Hasil penyarian kemudian disaring dengan menggunakan corong *Buchner* untuk selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Hasil pemekatan kemudian diuapkan di atas penangas air dengan suhu 60-70 °C sambil diangin-anginkan hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya ekstrak dapat dilakukan pengujian toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Pembuatan Larutan Induk

Larutan induk dengan konsentrasi 2000 ppm disiapkan dengan cara melarutkan 0,2 gram ekstrak ke dalam 100 mL larutan garam 2%. Terdapat 3 seri larutan disiapkan yaitu 1 seri larutan kontrol (larutan garam 2% tanpa perlakuan ekstrak), 1 seri larutan induk ekstrak etanol kulit buah naga (2000 ppm) dan 1 seri larutan induk ekstrak etanol kulit apel (2000 ppm). Selanjutnya larutan induk seri ekstrak etanol masing-masing sampel dibagi menjadi 11 tingkatan konsentrasi (1,9 ppm, 3,9 ppm, 7,8 ppm, 15,6 ppm, 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm) untuk selanjutnya diujikan pada larva *Artemia salina*.

Penetasan Kista *Artemia salina*

Sebanyak 0,5 gram kista larva udang *Artemia salina* di tetaskan dalam 1000 mL air laut buatan dengan salinitas 20 g/L selama 48 jam di bawah pencahayaan yang cukup dan dilengkapi *aerator*. Setelah 48 jam larva udang yang telah menetas dipipet sebanyak masing-masing 10 ekor larva ke dalam botol vial yang telah berisi 5 mL larutan garam 2% yang diberi perlakuan ekstrak masing-masing sampel (ekstrak etanol kulit buah naga dan ekstrak etanol kulit apel) dengan konsentrasi yang berbeda (1,9 ppm, 3,9 ppm, 7,8 ppm, 15,6 ppm, 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm) dan larutan garam 2% tanpa penambahan ekstrak sebagai kontrol. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali untuk setiap pengujian kemudian diberi penerangan yang cukup selama 24 jam.

Pengujian *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*

Sebanyak 10 ekor larva *Artemia salina* diberi perlakuan ekstrak etanol kulit buah naga merah dan ekstrak etanol kulit apel masing-masing dengan tingkatan konsentrasi yang berbeda (1,9 ppm, 3,9 ppm, 7,8 ppm, 15,6 ppm, 31,25 ppm, 62,5 ppm, 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan 2000 ppm) dan kontrol, masing-masing dengan tiga kali pengulangan. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam pasca perlakuan dengan menghitung jumlah kematian larva dalam setiap botol uji dan selanjutnya dianalisis probit untuk mengetahui nilai LC₅₀ dari tiap perlakuan. Analisis probit menggunakan *Microsoft Excel* untuk menentukan nilai LC₅₀ masing-masing ekstrak.

Daftar Pustaka

1. Waladi, Johan, V. S. & Hamzah, F. Pemanfaatan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*.) Sebagai Bahan Tambahan Dalam Pembuatan Es Krim. *Jom Faperta* **2**, (2015).
2. Handayani, P. A. & Rahmawati, A. Pemanfaatan Kulit Buah Naga (Dragon Fruit) Sebagai Pewarna Alami Makanan Pengganti Pewarna Sintetis. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan* **1**, 19–24 (2012).
3. Wu, L. *et al.* Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* **95**, 319–327 (2006).
4. Yus, H., Octaviani, V. D. & Simanjuntak, K. Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Apel (*Malus sylvestris*-mill) Var. Rome Beauty Terhadap Kadar Enzim SGPT Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Yang Diinduksi CCL4 (Karbon Tetra Klorida). *Jurnal Profesi Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan* **11**, 56–62 (2018).
5. Suhartati, R. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Streptococcus Pyogenes*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi* **17**, 513 (2018).
6. Khoiroh, N., Lukiati, B. & Parabaningtyas, S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Hayat* **2**, 34–44 (2018).
7. Jannata, R. H., Gunadi, A. & Ermawati, T. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* (Antibacterial Activity of Manalagi Apple Peel (*Malus sylvestris* Mill.) Extract on The Growth of *Streptococcus mutans*). *Universitas Jember* **2**, 23–28 (2014).
8. Manoi, F. Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu Simplisia Sambiloto. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* **XVII**, 1–5 (2006).
9. Winangsih, Prihastanti, E. & Parman, S. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi* **21**, 19–25 (2013).
10. Meyer, B. *et al.* Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica* **45**, 31–34 (1982).
11. Marliza, H., Oktaviani, D., Analis, A., Putra, K. & Batam, J. Program Studi S1 Farmasi Universitas Bengkulu Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemumu (*Colacasia Gigantea* Hook.F) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Bencoolen Journal of Pharmacy* **1**, 38–45 (2021).
12. Khasanah, N. W., Karyadi, B. & Sundaryono, A. Uji Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Umbi *Hydnophytum* sp. terhadap *Artemia salina* Leach. *PENDIPA Journal of Science Education* **4**, 47–53 (2020).
13. Hendra, R. *et al.* Cytotoxicity and Antiplasmodial Properties of Different *Hylocereus polyrhizus* Peel Extracts. *Medical science monitor basic research* **27**, e931118 (2021).
14. Yana, Y., Adhiksana, A. & Amborowati, C. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Toksisitas Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Teknik Kimia Vokasional (Jimsi)* **3**, 15–21 (2023).
15. Harborne, J. B. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro)*. (2006).