

UJI TOKSISITAS SENYAWA BIOAKTIF TUMBUHAN POLOHI WASU (*Begonia* sp.) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach)

Nurlansi¹, Nasruddin², Fatma Sari³

¹Jurusan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Halu Oleo, Kendari

²Jurusan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Halu Oleo, Kendari

³Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Tujuh Belas Agustus 1945, Jakarta.

ABSTRAK

Tumbuhan Polohi Wasu (*Begonia* sp.) telah diuji toksisitasnya terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach)". Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas senyawa bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan beberapa jenis pelarut yaitu: metanol, n-heksan; etilasetat dan air. Uji toksisitas senyawa aktif terhadap larva udang menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Variasi konsentrasi larutan uji adalah 1000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm dan 100 ppm. Persentasi kematian larva udang dihitung setelah pengamatan 24 jam, menggunakan persamaan McLaughlin sehingga dapat diketahui nilai LC₅₀ dari sampel yang diuji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol dengan LC₅₀ sebesar 369 ppm, fraksi n-heksan dengan LC₅₀ sebesar 665 ppm, fraksi etilasetat dengan LC₅₀ sebesar 433 ppm dan fraksi air dengan LC₅₀ sebesar 419 ppm. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa polohi wasu merupakan tumbuhan yang memiliki efek toksik sehingga berpotensi sebagai senyawa bioaktif.

Kata Kunci: Toksisitas senyawa bioaktif, *Begonia* sp, Larva Udang (*Artemia salina* Leach)

ABSTRACT

Polohi Wasu (*Begonia* sp.) plant have been researched its toxicity to *Artemia salina* Leach. The aim of this research is to find toxicity in bioactive compounds of plant which have been used as traditional medicine. Extraction conducted by using some kind of solvent such as methanol extract, hexane fraction; ethylacetate and water fraction. The toxicity test of bioactive compound to *Artemia salina* using *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. Variation Concentration in solution is 1000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm and 100 ppm. Mortality percentage of brine shrimp counted after 24 hour observation, using McLaughlin equation, so we can determine value of LC₅₀ from research sample. The result of research show that methanol extract with LC₅₀ at 369 ppm, Hexane fraction with LC₅₀ at 665 ppm, ethylacetate fraction with LC₅₀ at 433 ppm and water fraction with LC₅₀ at 419 ppm. So we can concluded that polohi wasu plant with toxic effect and have potential as bioactive compounds.

Keywords: Toxicity of bioactive compounds, *Begonia* sp, brine shrimp (*Artemia salina* Leach).

I. PENDAHULUAN

Masyarakat suku Mori secara turun-temurun telah menggunakan air rebusan tumbuhan “polohi wasu” sebagai obat tradisional. Tumbuhan tersebut banyak tumbuh di sekitar pegunungan Wawopada Kecamatan Lembo Kabupaten Morowali. Pemakaian obat tradisional asal tumbuhan masih banyak diminati oleh masyarakat. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Depkes RI menunjukkan bahwa pemakaian obat tradisional oleh masyarakat sebesar 49% untuk tujuan pencegahan (*preventive*); 22,5% untuk upaya pemeliharaan (*promotive*) dan 22% untuk upaya pengobatan (*curative*), sedangkan kelebihan digunakan untuk maksud-maksud lain misalnya untuk KB, kecantikan dan lain-lain (Depkes RI, 2009).

“Polohi wasu” (nama lokal dalam bahasa Morowali), adalah tumbuhan multi khasiat yang dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan beberapa jenis penyakit seperti batuk-batuk kering, paru-paru kotor, sakit pinggang, usus terlipat, gejala lumpuh, susah buang air besar, membersihkan akar tumor, hait yang tidak teratur, perut keras, kencing manis, rematik, kencing batu, batukberdarah (TBC), malaria, cacingan, gula, keram-keram badan, penyakit gondok, exim yang bertahun-tahun, membersihkan nikotin rokok dalam paru-paru, dan asam urat. Pemanfaatan tumbuhan tersebut cukup sederhana yaitu dilakukan dengan cara merebus 1 (satu) resep dengan 1 liter air sampai akhirnya diperoleh 1 (satu) gelas atau disari menggunakan air mendidih setelah itu didinginkan lalu diminum. Isi setiap resep terdiri dari 7 (tujuh) batang dan dapat direbus ulang sampai tiga kali. Cara pemakaiannya disesuaikan dengan kondisi fisik seseorang. Bagi penderita yang fisiknya lemah, disarankan minum resep 1/3 gelas pagi, 1/3 gelas tengah hari dan 1/3 gelas sore. Pemanfaatan *polohi*

wasu sebagai obat tradisional (Mbonuhu, 1996).

Tumbuhan “polohi wasu” (*Begonia* sp.) saat ini dapat dijadikan sebagai alternatif untuk menambah penghasilan keluarga. Seluruh bagian dari tumbuhan ini yang telah dikeringkan, dapat dijual dengan harga Rp 20.000,- perbungkus dengan berat rata-rata perbungkus \pm 2,5 gram (Penimbangan yang dilakukan di Laboratorium Pengembangan FKIP-UHO). Satu bungkus dapat direbus berulang kali sampai air rebusan tidak berwarna. Dari informasi tersebut mengindikasikan bahwa konsentrasi zat berkhasiat atau zat aktif yang terkandung dalam tumbuhan polohi wasu cukup tinggi.

Akhir-akhir ini kebutuhan masyarakat akan tumbuhan “polohi wasu” semakin hari semakin besar karena pemanfaatannya tidak hanya untuk memenuhi kebutuhan masyarakat setempat tetapi telah menyebar hingga ke daerah lain seperti: Poso, Palu, Luwuk, Bitung, Manado, Kendari, Palopo dan Ujung Pandang, dan telah dipasarkan melalui situs jejaring sosial. Sebagai tumbuhan lokal yang berpotensi sebagai obat dan data ilmiahnya masih sangat kurang maka diperlukan eksplorasi untuk mendapatkan data yang dapat dipertanggung jawabkan. Maka sebagai langkah awal perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas dan potensi senyawa bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan tersebut. Pengujian toksisitas tumbuhan *polohi wasu* (*Begonia* sp.), dilakukan terhadap ekstrak metanol dan fraksi-fraksinya mulai dari fraksi nonpolar, semipolar sampai dengan fraksi yang polar.

II. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengembangan Unit Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Haluoleo, Kendari. Untuk memastikan nama ilmiah tumbuhan yang dijadikan sebagai sampel penelitian

maka dibuat spesimen herbaria untuk dideterminasi. Awal bulan Februari 2012 herbaria yang disiapkan, kemudian dideterminasi di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Hayati ITB Jl. Ganesa 10 Bandung 40132.

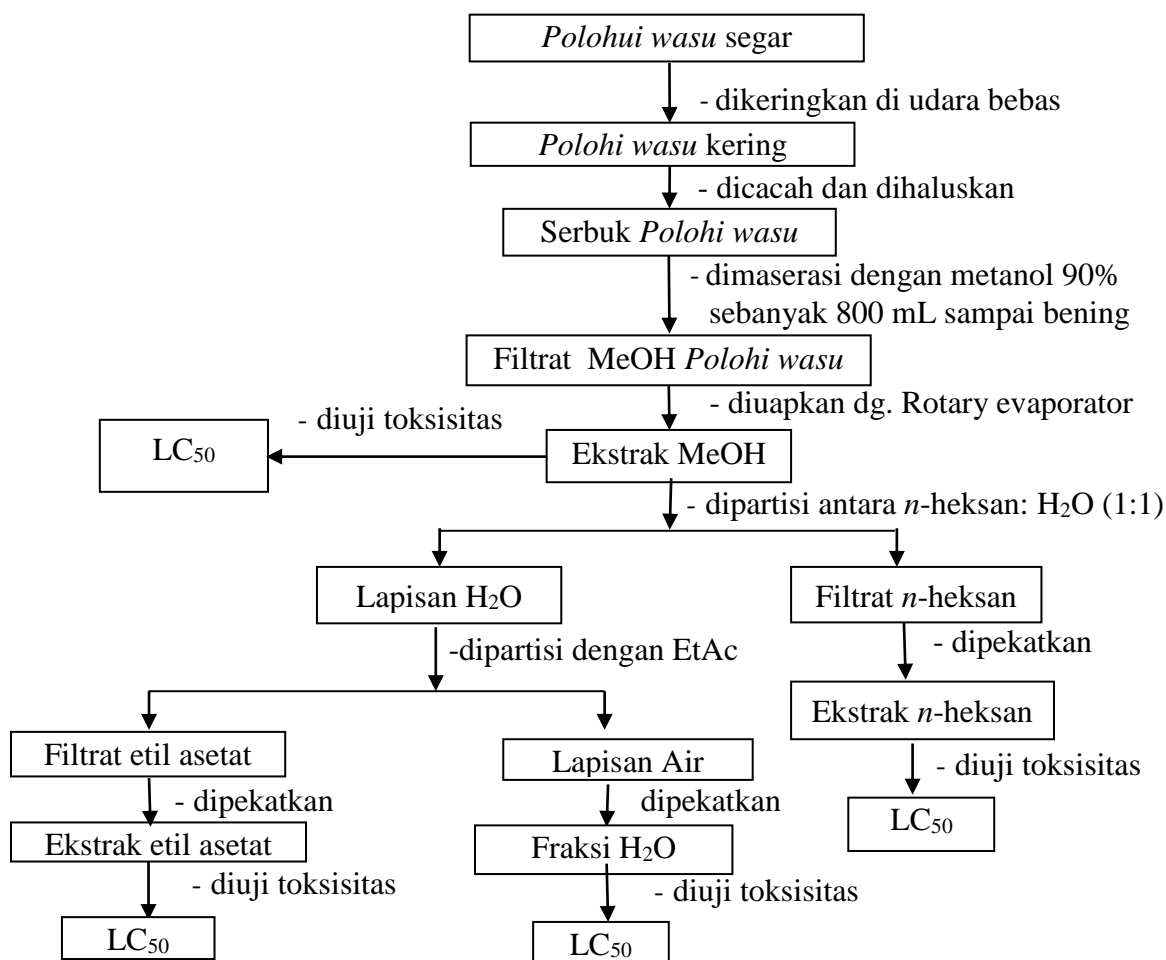
BAHAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian tumbuhan polohi wasu. Tumbuhan ini diambil di Desa Wawopoda Kecamatan Lembo Kabupaten Morowali Provinsi Sulawesi Tengah. Hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas adalah larva udang (*Artemia salina*). Peralatan yang digunakan adalah: blender, rotary evaporator, pipet volume, pipet tetes,

gelas ukur, gelas kimia, neraca analitik, batang pengaduk, botol vial dan peralatan lainnya. Bahan kimia yang diperlukan yaitu metanol 90%, etilasetat, n-heksan serta berbagai pelarut organik sesuai dengan prosedur kerja.

EKSTRAKSI DAN FRAKSINASI

Dalam penelitian ini akan digunakan tehnik maserasi dengan pertimbangan untuk menghindari pemanasan yang mungkin dapat mempengaruhi keaktifan senyawa yang terkandung dalam sampel yang diteliti. Ekstraksi dan fraksinasi serta uji toksisitas setiap fraksi dilakukan menurut diagram alir yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1 Diagram alir Ekstraksi dan Fraksinasi serta Pengujian Toksisitas

Secara umum untuk memaserasi 1 kg sampel diperlukan metanol sebanyak 1.000-1.500 mL, ini dimaksudkan agar sampel dapat terendam semuanya. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi dan diperoleh ekstrak metanol, lalu ditimbang.

Ekstrak metanol kental dipartisi dengan n-heksan:air (1:1), dilakukan sampai filtrat n-heksan bening. Filtrat disatukan lalu dipekatkan dan ditimbang. Lapisan air selanjutnya dipartisi dengan etil asetat dan diperoleh filtrat etilasetat dan lapisan air. Filtrat etil asetat dan lapisan air dipekatkan dan diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi air. Kedua fraksi tersebut ditimbang.

UJI TOKSISITAS TERHADAP LARVA UDANG

Uji toksisitas dilakukan menggunakan metode pencelupan (*dipping method*) dari Ambarwati (2010), tahap pelaksanaannya adalah sebagai berikut:

a. Penetasan Larva Udang (*Artemia salina* L.)

Telur atau kista *Artemia salina* L. ditaburkan di dalam beker gelas yang berisi larutan NaCl 10%. Telur tersebut akan menetas dalam jangka 24 sampai 36 jam kemudian. Telur yang telah menetas pada 24 jam pertama larvanya dipindahkan pada beker gelas yang lain untuk menjaga kehomogenan larva. Kemudian larva dibiarkan selama 24 jam lagi untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru dan siap digunakan sebagai bioindikator.

b. Preparasi Larutan Uji Dan Uji hayati.

Pembuatan larutan uji dilakukan dengan menimbang 50 mg cuplikan yang akan diuji dan dilarutkan kedalam 50 mL aquades, sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 1000 ppm (Indrayani, *et al.*, 2006). Setelah itu diambil 5, 4, 3, 2, 1, 0,5 mL larutan cuplikan kemudian

simpan ke dalam botol uji. Setiap pengerjaan dilakukan dengan triplo. Botol uji yang telah berisi cuplikan diuapkan pelarutnya. Setelah semua pelarutnya menguap, lalu ditambahkan larutan NaCl 10% kurang lebih 2 mL dan selanjutnya dengan menggunakan pipet yang berujung panjang diambil 10 ekor larva udang lalu dimasukkan pada setiap botol uji. Tabung yang telah berisi larva tersebut ditambahkan Larutan NaCl 10% sampai mencapai 5 mL dan diletakan dibawah lampu neon 10 watt pada jarak kira-kira 15 cm. Konsentrasi larutan yang digunakan adalah 1000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm dan 100 ppm. Setelah penelitian berlangsung selama 24 jam, kemudian dihitung larva yang mati dan dianalisis untuk menentukan harga LC₅₀ pada taraf kepercayaan 95%.

c. Penentuan Toksisitas (LC₅₀)

Untuk menentukan toksisitas sampel uji atau nilai LC₅₀ dapat dilakukan menggunakan persamaan McLaughlin dengan rumus sebagai berikut:

$$A = \frac{X-50}{X-Y} \times \log 2$$

$$-\text{Log LC}_{50} = (-\log Z) + A$$

(McLaughlin, 1991)

Keterangan :

- A = Jarak yang sepadan
- X = Persentase batas atas konsentrasi 50%
- Y = Persentase batas bawah konsentrasi 50%
- Z = Batas atas konsentrasi 50%

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi dengan teknik maserasi dan kemudian dilanjutkan dengan partisi. Sampel kering tumbuhan "polohi wasu" dimaserasi menggunakan pelarut metanol. Pelarut metanol mampu menarik senyawa-senyawa metabolit sekunder dari yang bersifat polar sampai dengan nonpolar (Nurlansi, 2010).

Dari 178 gram serbuk tumbuhan “polohi wasu” dimaserasi dengan pelarut metanol 90%, setelah diuapkan pelarutnya diperoleh ekstrak metanol kental sebanyak 12,6 gram.. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dipartisi dengan *n*-heksan dan aquades (1:1) sampai diperoleh filtrat *n*-heksan yang berwarna bening. Setelah filtrat *n*-heksan dipekatkan, diperoleh fraksi *n*-heksan sebanyak 6,8 gram. Lapisan air dipartisi kembali dengan pelarut yang semipolar yaitu etil asetat sehingga diperoleh filtrat etil asetat dan air. Setelah dipekatkan maka diperoleh fraksi etil asetat sebanyak 3,7 gram dan fraksi air sebanyak 2,1 gram.

Hasil uji toksisitas dari ekstrak metanol,, fraksi *n*-heksan, fraksi etilasetat dan fraksi air dari *polohi wasu* dilakukan terhadap larva udang (*A.*

salina). Masing-masing fraksi dilalukan triplo dan setiap tabung berisi 10 ekor larva *Artemia salina*. Data rata-rata hasil penelitian yang menunjukkan jumlah larva yang hidup dan yang mati pada setiap perlakuan konsentrasi dapat disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan data rata-rata jumlah *A. salina* yang mati dan yang hidup, total mati dan total hidup dari Tabel 1 maka dihitung nilai akumulasi mati dan hidup serta rasio kematian larva pada setiap konsentrasi yang ditunjukkan pada Tabel 2. Berdasarkan data dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa persentase kematian larva *A. salina* mengalami penurunan seiring dengan berkurangnya konsentrasi. Dengan menggunakan persamaan Mc Laughlin maka nilai LC₅₀ pada setiap fraksi yang diuji dapat ditentukan.

Tabel 1. Rata-Rata Hasil Uji Toksisitas terhadap larva *A. salina* dari Ekstrak Methanol, Fraksi *n*-Heksan, Fraksi Etilasetat dan Fraksi Air.

Konsentrasi (ppm)	E. Metanol		Fr. <i>n</i> -heksan		Fr.EtAc		Fr. Air	
	M	H	M	H	M	H	M	H
1000	30	0	19	11	27	27	25	5
800	26	4	13	17	23	23	22	8
600	22	8	11	19	20	20	16	14
400	16	14	7	23	13	13	13	17
200	9	21	4	26	4	4	10	20
100	5	25	1	29	1	1	5	25
	TM=108	TH=72	TM=55	TH=125	TM=88	TH=92	TM=91	TH=89

Keterangan: M = Mati
H = Hidup

TM = Total Mati
TH = Total Hidup

Fr = Fraksi

Tabel 2 : Nilai akumulatif larva mati dan hidup, rasio kematian larva, persentasi kematian dan nilai LC₅₀ dari ekstrak metanol, Fraksi n-Heksan, Fraksi Etilasetat dan Fraksi Air.

Bahan uji	Kons. (ppm)	Mati	Hidup	Rasio M:T	Kematian (%)	LC 50 (ppm)
Ekstrak MeOH	1000	108	0	108/108	100	369
	800	78	4	78/82	95,12	
	600	52	12	52/64	81,25	
	400	30	26	30/56	53,57	
	200	14	47	14/61	22,95	
	100	5	72	5/77	6,49	
Fr. n-Heksan	1000	55	11	55/66	83,33	665
	800	36	28	35/64	56,25	
	600	23	47	23/70	32,86	
	400	12	70	12/82	14,63	
	200	5	96	5/101	4,95	
	100	1	125	1/126	0,79	
Fr. EtAc	1000	88	3	88/91	96,70	433
	800	61	10	61/71	85,92	
	600	38	20	38/58	65,52	
	400	18	37	18/55	32,73	
	200	5	63	5/68	7,35	
	100	1	92	1/93	1,08	
Fr. Air	1000	91	5	91/96	94,79	419
	800	66	13	66/79	83,54	
	600	44	27	44/71	61,97	
	400	28	44	28/72	38,88	
	200	15	64	15/79	18,99	
	100	5	89	5/94	5,32	

Keterangan: M = Mati
H = Hidup
T = Total mati + Hidup
Fr = Fraksi

Uji toksisitas tumbuhan “polohi wasu” terhadap larva udang *Artemia salina* Leach, dilakukan untuk mengetahui tingkat ketoksikan dari sampel yang diuji. Pengujian dilakukan pada berbagai konsentrasi yaitu konsentrasi 1000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm, dan 100 ppm serta masing-masing konsentrasi dilakukan sebanyak tiga kali perlakuan (triplo).

Hasil uji toksisitas untuk ekstrak metanol, yang terlihat pada Tabel 1 dan 2 tampak bahwa pada konsentrasi 1000 ppm ekstrak metanol *polohi wasu* (*Begonia* sp.) menunjukkan toksisitas sebesar 100%. Artinya, tidak ada hewan

uji yang hidup. Pada konsentrasi 800 ppm menunjukkan toksisitas sebesar 95,12%, untuk konsentrasi 600 ppm 81,25%, pada konsentrasi 400 ppm 53,57%, pada konsentrasi 200 ppm 22,95%, dan pada konsentrasi 100 ppm hewan uji yang mati sebesar 6,49%. Dengan demikian nilai LC₅₀ ekstrak metanol berada pada rentang konsentrasi 400 dan 200 ppm. Setelah dihitung menggunakan persamaan Mc Laughlin maka diketahui nilai LC₅₀ untuk ekstrak metanol adalah 369 ppm tergolong toksik. Suatu ekstrak dikatakan toksik dan berpotensi sebagai senyawa bioaktif jika memiliki nilai LC₅₀ kurang dari 1000 ppm setelah waktu kontak 24 jam (Meyer *et al.*, 1982 dalam

Ambarwati, 2010). Demikian juga kriteria yang digunakan untuk menentukan toksisitas suatu sampel dari McLaughlin dimana $LC_{50} < 1000$ ppm menunjukkan suatu ekstrak bersifat toksik dan sebaliknya jika $LC_{50} > 1000$ ppm maka tidak bersifat toksik (McLaughlin, 1991).

Pada hasil uji toksisitas untuk fraksi *n*-heksan, tampak bahwa pada konsentrasi 1000 ppm dengan toksisitas 83,33%. Pada konsentrasi 800 ppm menunjukkan toksisitas sebesar 56,25%, untuk konsentrasi 600 ppm 32,86%, pada konsentrasi 400 ppm 14,63% , pada konsentrasi 200 ppm 4,95%, dan pada konsentrasi 100 ppm hewan uji yang mati sebesar 0,79 %. Dengan menggunakan persamaan Mc Laughlin maka diketahui nilai LC_{50} untuk fraksi *n*-heksan adalah 665 ppm tergolong toksik.

Untuk fraksi etil asetat, tampak bahwa pada konsentrasi 1000 ppm fraksi etil asetat menunjukkan toksisitas 96,70%. Pada konsentrasi 800 ppm menunjukkan toksisitas sebesar 85,92%, untuk konsentrasi 600 ppm 65,52%, pada konsentrasi 400 ppm 32,73% , pada konsentrasi 200 ppm 7,35%, pada konsentrasi 100 ppm hewan uji yang mati sebesar 1,08 %. Setelah dilakukan interpretasi data yang menggunakan persamaan Mc Laughlin maka diketahui nilai LC_{50} untuk fraksi etilasetat adalah 433 ppm, bersifat toksik dan berpotensi sebagai senyawa bioaktif. Pengaruh ekstrak atau fraksi senyawa bahan alam dapat diketahui dari uji kematian larva *A. salina* melalui metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Uji toksisitas yang demikian dapat digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa aktif yang diduga berkhasiat sebagai antitumor. Skrining yang menggunakan BSLT seringkali mempunyai korelasi positif dengan potensinya sebagai antikanker (Anderson, 1991; Wahyuningsih, *et al.*, 2008).

Kemudian hasil uji fraksi air yang tampak bahwa pada konsentrasi

1000 ppm menunjukkan toksisitas 94,79%. Pada konsentrasi 800 ppm menunjukkan toksisitas sebesar 83,54%, untuk konsentrasi 600 ppm sebesar 61,97%, , pada konsentrasi 400 ppm sebesar 38,88% , pada konsentrasi 200 ppm sebesar 18,99%, pada konsentrasi 100 ppm hewan uji yang mati sebesar 5,32 %. Dari persamaan Mc Laughlin, diketahui nilai LC_{50} untuk fraksi air adalah 419 ppm juga bersifat toksik

Hal ini menunjukkan bahwa tingkat ketoksikan dari ekstrak metanol lebih tinggi jika di dibandingkan dengan tingkat toksisitas dari lainnya yaitu fraksi *n*-heksan, fraksi etilasetat dan fraksi air. Toksisitas ekstrak metanol yang lebih tinggi tersebut kemungkinan karena pelarut tidak habis diuapkan. Dengan demikian pelarut dapat menambah ketoksikan zat uji. Kemungkinan lain karena senyawa yang terkandung dalam jaringan tumbuhan polohi wasu lebih toksik jika bersinergis dengan senyawa lain.

Khasiat tumbuhan polohi wasu sebagai obat penyakit kanker, konon diketahui dari mimpi seorang warga yang berusaha megobati keluarganya penderita kanker. Kemoterapi telah dilakukan tetapi karena keterbatasan ekonomi maka pengobatan medis harus dihentikan. Hal yang menarik adalah tingkat ketoksikan fraksi air hasil pengolahan secara tradisioal (perebusan 2,5 gram dengan 1 L air sampai menjadi 1 gelas), yang menggunakan metode BSLT, mengetahui bahwa air rebusan yang dilakukan mempunyai nilai LC_{50} sebesar 428 ppm (Samsuriati, 2012). Pengujian metode BSLT terhadap beberapa obat antikanker yang telah digunakan secara klinik antara lain podofilotoksin. Podofilotoksin adalah suatu metabolit sekunder yang diisolasi dari tumbuhan *Podophyllum peltatum* dan digunakan sebagai obat antikanker yang mampu memberikan LC_{50} sebesar 2,40 μ g/ml pada BSLT (Meyer *et al.*, 1982). dalam Indrayani *et al.*, 2006).

IV. PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan, analisis data dan uraian-uraian pada hasil dan pembahasan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak metanol tumbuhan *polohi wasu* (*Begonia* sp.) mengandung senyawa aktif yang toksik terhadap larva udang (*A. salina*) dengan LC₅₀ sebesar 369 ppm.
2. Fraksi-fraksi dari tumbuhan *polohi wasu* (*Begonia* sp.) mengandung senyawa aktif yang toksik terhadap larva udang (*A. salina*). Fraksi non polar (*n*-heksan) dengan LC₅₀ sebesar 665 ppm, fraksi semi polar (etil asetat) dengan LC₅₀ sebesar 433 ppm, dan untuk fraksi air dengan LC₅₀ sebesar 419 ppm.

Saran

Adapun saran dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan bioindikator yang lebih spesifik untuk senyawa sitotoksik dan anti kanker.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan isolasi dan pemurnian senyawa aktif agar dapat dilakukan analisis dengan menggunakan spektroskopi untuk menentukan struktur molekulnya

DAFTAR PUSTAKA

Ambarwati, 2010. *Uji Toksisitas Fraksi Daun Ambre (Geranium rādula Cavan.) Terhadap Artemia salina* Leach. dan Profil Kandungan Kimia Fraksi Teraktif. FMIPA. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Anderson, 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor

Prescreens. *Phytochemistry Analysis*. (2): 107-111.

Departemen Kesehatan RI. 2009. Artikel/ttg tanaman obat/depkes/buku/1-134.pdf [Maret 2013].

Indrayani, L., H. Soetjipto, dan L. Sihasale. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Berkala Penelitian Hayati*. (12): 57-61.

Nurlansi, 2010. *Potensi Senyawa Bioaktif dari Bahan Alam Sebagai Bahan Baku Sediaan Obat Tradisional dan Fitofarmaka*. Pidato Ilmiah Pengukuhan Guru Besar. UHO-Kendari.

Mbonuhu, A. 1996. *Surat Pemerintah Kabupaten Morowali Kecamatan Lembo Desa Wawopoda*. Morowali. Sulawesi Tengah.

Mayer, B. N., Putman, J. E., Jacobsen, L.B., and McLaghlin, J.L. 1982. *Brine Shrimp*. a carvanient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med*. 45;31.

McLaughlin, J.L. 1991. Crown Gall Tumours on Potato Disc and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassay for Higher Plant Screening and Fractination. *Methods in Plants Biochemistry*. 6 (1): 1-30.

Wahyuningsih, M.S.H., S. Wahyuono, D. Santoso, J. Setiadi, Soekotjo, S.M. Widiastuti, R. Rakhmawati, dan D.S.C. Wahyuni. 2008. *Eksplorasi Tumbuhan Dari Hutan Kalimantan Tengah Sebagai Sumber Senyawa Bioaktif*. *Biodiversitas*. 9 (3):169-172.