

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN KUBIS
(*Brassica Oleracea var Capitata L*) DENGAN METODE
Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)
Nur Hasanah*Ariefa Urbach***

*D3 Farmasi STIKes Kharisma Persada
Pamulang, Tangerang Selatan, 15417, Indonesia
Nurhasanahbik51@gmail.com

ABSTRAK

Daun Kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L*) merupakan salah satu tumbuhan obat yang tumbuh di Indonesia. Daun ini mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, fenolik, triterpenoid, steroid dan alkaloid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui toksisitas ekstrak daun Kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L*), menentukan fraksi yang memiliki nilai toksisitas paling tinggi, dan mengidentifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun Kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian ini menggunakan hewan uji larva *Artemia salina Leach* yang dibagi dalam 6 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 10 ekor, dengan replikasi 2 kali tiap kelompok. Konsentrasi ekstrak daun Kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L*) yang digunakan yaitu 50ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600, dan 1000ppm dan dilakukan partisi ekstrak dengan pelarut etanol, n-Heksan, dan Etil Asetat. Pengamatan terhadap larva yang mati dilakukan 24 jam setelah pemberian ekstrak. Berdasarkan data, LC50 ekstrak daun Kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L*) ditentukan dengan analisis probit. Hasil dari analisis probit menunjukkan LC50 fase Etanol menunjukkan nilai 131 ppm, fase n-Heksan menunjukkan nilai LC50 457 ppm, dan fase Etil Asetat memiliki nilai LC50 457 ppm. Hasil itu menunjukkan bahwa semua fase ekstrak daun Kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L*) mempunyai potensi toksik, hal ini ditunjukkan dengan harga LC50 > 1000 ppm.

Kata Kunci: Toksisitas, ekstrak daun Kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L*), *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

ABSTRACT

Brassica Oleracea var Capitata L is one kind of medical plant in Indonesia. The leaves contains flavonoids, saponins, tannin, phenolics, triterpenoids, steroid and alkaloids. The aims of the research is determine the lethal toxicity value of *Brassica Oleracea var capitata L*, determine the fraction that has the highest toxicity value, and identify the chemical compounds contained in the leaf extract *Brassica Oleracea var Capitata L*. The method used in this research is *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. This research use larva *Artemia salina Leach* that devided into 5 groups. Each group consist of 10 larva with two replications. *Brassica Oleracea var Capitata L* concentration used are 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, and 1000 ppm and done extract partition with ethanol, n-Hexane, and Ethyl Acetate. Observations were made during 24 hours of *Artemia salina Leach* mortality. Based on the data, LC₅₀ *Brassica Oleracea var Capitata L* determined by probity analysis. The result of probity analysis shows ethanol extract is 131 ppm,

LC₅₀ n-Hexane extract is 457 ppm, and Ethyl Acetate extract is LC₅₀ 457 ppm. The result indicates all extract having toxic value. In this case indicates with LC₅₀ > 1000 ppm.

Keywords: Toxicity, *Brassica Oleracea var Capitata L*, Brine

LATAR BELAKANG

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (Permenkes RI No. 007 Tahun 2012), bahan-bahan yang digunakan tidak mengandung bahan kimia sintetis. Obat tradisional terbuat dari campuran berbagai tumbuhan yang dapat dibuat menjadi bentuk sediaan yang bervariasi diantaranya adalah kapsul, tablet, pil dan lain-lain. Obat tradisional telah digunakan secara luas di dunia sejak hampir 20 tahun. Pada negara-negara seperti Ghana, Mali, Nigeria dan Zambia, penggunaan obat tradisional mencapai 60% dan sekitar 80% populasi di banyak negara menggunakan obat tradisional sebagai perlindungan kesehatan mereka (Kayne, 2010)

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional yaitu Kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L.*) merupakan sayuran jenis *Cruciferae* yang dapat berperan sebagai sumber antioksidan

alami melalui tingginya kadar karotenoid, tokoferol, dan asam askorbat. (Rahmalia, 2013). Di bidang kesehatan, dapat digunakan sebagai pencegah dan obat sariawan, penyakit beri-beri, penyakit Xerophthalmia, radang syaraf, lemahnya otot-otot, luka-luka pada tepi mulut, dermatitis bibir menjadi merah dan radang lidah, kandungan niacin dapat mencegah penyakit palagra dan pembentuk tulang dan gigi. Kegunaan kubis tidak terlepas dari senyawa yang ada didalamnya, yang disebut senyawa fitokimia.

Fitokimia adalah bahan – bahan yang ada didalam tanaman. Fitokimia biasanya bersifat spesifik pada setiap jenis atau kelompok jenis tanaman tertentu. Fitokimia terbagi atas metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer digunakan tanaman untuk pertumbuhan sementara metabolisme sekunder berperan penting dalam menentukan efek fisiologis suatu tanaman. Metode skrining fitokimia digunakan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder, makromolekul serta data yang diperoleh untuk menggolongkan tumbuhan, menentukan ciri atau sifat kimia dari fitotoksin dan fitoaleksin. Pendekatan skrining fitokimia meliputi analisis

kualitatif kandungan kimia dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, bunga, buah, dan biji), terutama kandungan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, antrakinon, flavonoid, kumarin, saponin (steroid dan triterpenoid), tannin (polifenolat), minyak atsiri (terpenoid), dan sebagainya. (Juniarti, 2009)

Efek fisiologis yang diberikan senyawa fitokimia membutuhkan konsentrasi yang tepat. Untuk itu perlu diadakan uji toksisitas. Toksisitas merupakan istilah dalam toksikologi yang didefinisikan sebagai kemampuan senyawa untuk menyebabkan kerusakan atau injuri. Istilah toksisitas merupakan istilah kualitatif yang terjadi atau tidak terjadinya kerusakan tergantung pada jumlah unsur senyawa toksik yang terabsorpsi. Uji toksisitas merupakan uji hayati yang digunakan untuk menentukan tingkat toksisitas dari suatu zat atau bahan pencemar. dilakukan uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan pelarut etanol. BSLT adalah suatu metode uji toksisitas akut yang sederhana, mudah pengerjaannya, cepat mendapatkan hasil, dan murah dalam pelaksanaannya. Selain itu, BSLT merupakan suatu bioassay-guided fraktionation yang dapat digunakan untuk penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari suatu bahan alam. (Juniarti, 2009)

Metode BSLT menggunakan larva udang (*Artemia salina Leach*) sebagai hewan coba. *Artemia salina Leach* merupakan organisme yang mempunyai kepekaan cukup tinggi terhadap toksik. Hasil uji toksisitas dengan metode ini telah terbukti memiliki korelasi positif dengan daya toksisitas senyawa antikanker. Jika pada uji toksisitas menunjukkan LC_{50} dibawah 1000 ppm berarti bahan tersebut memiliki potensi sebagai antikanker. (Juniarti, 2009)

Berdasarkan data di atas, menunjukkan bahwa tanaman tradisional masih digunakan sebagai pilihan untuk pengobatan dalam 20 tahun yang lalu hingga sekarang. tulisan-tulisan ilmiah mengenai tanaman kubis serta manfaat masih sulit ditemui, oleh karena itu peneliti bermaksud melakukan penelitian yang berjudul uji toksisitas ekstrak kubis (*Brassica Oleracea var Capitata L*). Uji toksisitas ini akan dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) pada larva udang tujuannya untuk mengetahui ada tidaknya kandungan *toxic* (racun) dalam kubis.

METODE

Instrumen yang digunakan adalah alat- alat laboratorium seperti gelas ukur, tabung reaksi, neraca analitik, pipet, batang pengaduk kaca, cawan , penjepit kayu, oven, water bath, kertas saring dan alat- alat lain seperti pisau, kain flannel, dan aerator merek Nikita Star , arus =3,5 L/menit.

Bahan yang digunakan adalah daun Kubis, Etanol, n-Heksan, Etil Asetat, larva *Artemia Salina Leach*, dan air laut.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun Kubis yang di beli di pasar Reni Jaya, Kecamatan Pamulang , Tangerang Selatan . Daun kubis segar seberat 2 Kg dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan dengan cara diletakan di tempat yang terbuka dan tidak terkena langsung sinar matahari. Karena pada pengeringan langsung terhadap sinar matahari akan merusak komponen aktif pada daun kubis. Selanjutnya simplisia daun kubis diekstraksi dengan metode maserasi, dengan cara merendam daun kubis dalam pelarut Etanol 70% selama 24 jam , lalu di saring dengan kapas dan di rendam kembali dalam etanol 70% sampai tersari atau terekstraksi sempurna yang ditandai dengan warna etanol menjadi bening kembali. Setelah itu, pelarut etanol yang tersisa diuapkan pada penangas air atau *water bath* sambil di aduk sehingga didapatkan ekstrak kental. (Subekti, N. 2014)

Penyiapan larva udang dilakukan dengan menetasakan telur udang 48 jam sebelum dilakukan uji. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut secukupnya dengan menerangi bagian wadah yang tidak ditempati telur udang dengan sinar lampu sebelumnya wadah di

pasang aerator, aerator ini berguna untuk menjaga kadar oksigen dalam wadah.

Setelah didapatkan larva *Artemia salina Leach*, dilakukan pembuatan larutan induk dengan ekstrak etanol daun kubis dengan konsentrasi 2000 ppm atau sebanyak 400 mg ekstrak dalam 200 ml air laut. Kemudian dilakukan pengenceran dengan air laut menjadi 50 ppm, 100 ppm, 200ppm, 400 ppm, 600 ppm, dan 1000 ppm.

Pembuatan partisi ekstrak n-Heksan dilakukan dengan menimbang 2 g ekstrak etanol daun kubis dan disuspensikan dengan air sebanyak 20ml, setelah larut kemudiandimasukan dalam corong pisah dan ditambahkan dengan total n-Heksan sebanyak 65ml, lalu diuapkan sampai mendapatkan ekstrak kental. Cara tersebut juga dilakukan pad pembuatan partisi Etil Asetat. (Cahyadi, 2009)

10 ekor larva *Artemia salina Leach* dimasukan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml konsentasi 50 ppm, 10 ml konsentasi 100 ppm, 10 ml konsentasi 200 ppm, 10ml konsentrsi 400 ppm, 10 ml konsentasi 600 ppm, 10 ml konsentasi 1000 ppm. Selain itu , dibuat control negatif yang berisi 10 ml air laut tanpa penambahan ekstrak. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik observasi. Setiap konsentrasi perlakuan dilakukan replikasi sebanyak 2 kali (*duplo*). Data yang

dikumpulkan adalah data primer yang didapat dari jumlah larva udang yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap

konsentrasi ekstrak daun kubis. (Subekti, N. 2014)

HASIL

Pada bagian hasil penulisan, tuliskan hasil temuan tanpa membahasnya.

Tabel 1.Distribusi frekuensi

Parameter	Ekstrak Etanol	Partisi Ekstrak	
		n- Heksan	Etil Asetat
Jumlah	72,36 gram	0,21 gram	0,24 gram
Kadar Air	54,6 %	-	-
Rendemen Ekstrak	44%	-	-

Berdasarkan Tabel 1, diketahui bahwa jumlah ekstrak etanol yang di dapatkan adalah 72,36 gram, kadar air 54,6%, serta rendemen ekstrak 44%,

0,21 gram didapatkan dari partisi ekstrak n-Heksan , dan 0,24 gram didapat dari partisi ekstrak Etil Asetat

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas

Crude Ekstrak	Nilai LC ₅₀ (ppm)
Fase Etanol	131 ppm
Fase n-Heksan	457 ppm
Fase Etil Asetat	851 ppm

Berdasarkan tabel 2. Diketahui bahwa *crude* ekstrak yang memiliki nilai toksisitas paling tinggi yaitu pada fase etanol dengan nilai LC₅₀ sebesar 131 ppm,selanjutnya fase n-Heksan memiliki nilai LC₅₀ 457 ppm, dan fase Etil Asetat yang memiliki nilai LC₅₀ sebesar 457 ppm.

DISKUSI

Dari hasil ekstrak daun kubis menggunakan pelarut Etanol yang telah dikentalkan sebesar 72,36 g, setelah diperoleh ekstrak Etanol maka dilakukan partisi awal menggunakan pelarut non polar yaitu n-Heksan dan pelarut semi polar yaitu Etil Asetat diperoleh hasil

partisi ekstrak n- Heksan sebanyak

0,21

g dan partisi ekstrak Etil Asetat

sebanyak 0,24 g dengan kadar air ekstrak Etanol sebanyak 54,6%.

Uji toksisitas ekstrak Kubis (*Brassica Oleracea* var *capitata* L) bertujuan untuk mengetahui ekstrak dari fase mana yang paling aktif. Dengan cara mencari fase mana yang memiliki toksisitas paling tinggi. Maka dilakukan uji BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). BSLT dilakukan terhadap ekstrak etanol dan fase-fase nya yaitu fase n-Heksana dan fase Etil Asetat Kubis (*Brassica Oleracea* var *capitata* L). Suatu senyawa dinyatakan mempunyai potensi toksisitas akut jika mempunyai nilai LC_{50} kurang dari 1000 $\mu\text{g/ml}$. LC_{50} (Lethal Concentration 50%) merupakan konsentrasi zat yang menyebabkan terjadinya kematian pada 50% hewan percobaan. Pada penelitian ini digunakan hewan percobaan yaitu larva *Artemia salina* Leach.

Pada pengujian ekstrak daun kubis dengan menggunakan pelarut Etanol, n- Heksan, dan Etil Asetat diperoleh bahwa semakin meningkatnya konsentrasi maka semakin meningkat pula persen kematian larva, hal ini dapat dilihat pada tabel 2. Untuk mengetahui besarnya LC_{50} kematian larva digunakan analisis probit, yang merupakan hubungan antara persen kematian larva dengan konsentrasi ekstrak. Untuk menentukan konsentrasi ekstrak yang memiliki kemampuan Lethal dosis (LC_{50}) maka dilakukan perhitungan

dengan menggunakan regresi linier yaitu dimana Y (nilai probit dari hasil presentasi kematian) dan X (log konsentrasi) adalah $Y = ax + b$

Berdasarkan analisis probit pada ekstrak Etanol diperoleh persamaan yaitu $y = 3,2794x - 1,9831$ setelah dilakukan perhitungan diperoleh hasil LC_{50} sebesar 131 ppm. Analisis probit pada fase ekstrak n-Heksan diperoleh persamaan yaitu $y = 1,7779x + 0,2601$ didapat hasil LC_{50} sebesar 457 ppm. Pada analisis probit ekstrak fase pelarut Etil Asetat yaitu $y = 1,8449x + 0,08$ memperoleh hasil LC_{50} sebesar 457 ppm. (Subekti, 2014)

Hasil uji toksisitas crude ekstrak dengan metode BSLT dapat dilihat pada tabel 3. Berdasarkan tabel tersebut diperoleh bahwa Etanol, n-Heksan dan Etil Asetat memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ menurut Wegner et al 1993 toksik dibedakan menjadi 3 kategori yaitu kategori sangat toksik dengan nilai $LC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$, kategori tengah toksik nilai $LC_{50} 30 - 1000 \mu\text{g/ml}$ dan kategori tidak toksik ialah $> 1000 \mu\text{g/ml}$ sehingga hasil penelitian ini dapat dikatakan masuk kedalam kategori tengah toksik (Ramadhani, 2009)

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak etanol memiliki kematian larva (LC_{50}) berada pada konsentrasi 131 ppm. Sehingga dapat dikatakan bahwa

senyawa yang paling toksik berada pada senyawa polar. Senyawa-senyawa polar dalam Kubis diantaranya flavonoid, tannin dan polifenol. Flavonoid yang memiliki kemampuan menghambat sel kanker, melalui beberapa mekanisme flavonoid sebagai antikanker antara lain: pertama, flavonoid sebagai oksidan yaitu melalui mekanisme pengaktifan jalur apoptosis sel kanker. Mekanisme apoptosis (kematian sel secara terprogram) terjadi sebagai akibat fragmentasi (pemecahan) DNA. Fragmentasi (pemecahan) ini diawali dengan dilepasnya rantai proksimal DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksil. Kedua, flavonoid sebagai penghambat proliferasi (fase sel saat mengalami pengulangan siklus sel tanpa hambatan) tumor/kanker yang salah satunya dengan menghambat (menghambat) aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel. Ketiga, dengan menghambat aktivitas reseptor tirosin kinase. (Ramadhani, 2009)

Hasil menunjukkan bahwa fraksi n-Heksan juga mempunyai harga LC_{50} kurang dari 1000 yaitu sebesar 457ppm. Meskipun kemampuan fraksin-Heksan memiliki nilai toksisitas lebih rendah di bandingkan Etanol, namun senyawa yang larut dalam senyawa non polar juga masih

tergolong sebagai senyawa toksik. Menurut Taofik (2010) senyawa yang larut pada pelarut non polar antara lain saponin, triterpenoid. Saponin dan triterpenoid dapat dikatakan memiliki bagian nonpolar dan polar. (Taofik et al., 2010).

Senyawa saponin dan triterpenoid pada kadar tertentu memiliki potensi toksisitas akut serta dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach. Menurut Cahyadi (2009) Mekanisme kematian larva berhubungan dengan fungsi senyawa triterpenoid dan saponin yang dapat menghambat daya makan larva (antifedant). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai stomach poisoning atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan terganggu. Selain itu, senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi Etil Asetat memiliki daya toksisitas sama seperti n-Heksan yaitu sebesar 457 ppm. Namun nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ masih tergolong senyawa toksik bagi sel. Adapun senyawa ekstrak yang berada pada pelarut semi polar antara lain

dengan menggunakan pelarut etil asetat yaitu alkaloid. Hal ini menunjukkan dapat diaplikasikan sebagai senyawa anti kanker. (Harbourne, 1984)

Alkaloid yang berasal dari tumbuhan memiliki mekanisme sitotoksik yaitu berperan sebagai tubulin inhibitor. Pada proses siklus sel alkaloid berikatan dengan tubulin yaitu suatu protein yang menyusun mikrotubulus (organel sel). Terikatnya tubulin pada alkaloid mengakibatkan polimerisasi (reaksi penggabungan dua molekul) protein menjadi mikrotubulus (organel sel) akan terhambat sehingga pembentukan spindle mitosis akan terhambat pula dan siklus sel akan terhenti pada metafase. Karena tidak dapat melakukan pembelahan sel, sehingga sel tersebut kemudian akan mengalami apoptosis (kematian sel secara terprogram). (Bertomi, 2011)

KESIMPULAN

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa Nilai LC_{50} fraksi etanol daun kubis berada pada konsentrasi 131 ppm, fraksi n- Heksan dan fraksi Etil Asetat memiliki nilai LC_{50} yang sama yaitu berada pada konsentrasi 457 ppm. Fraksi Etanol memiliki toksisitas yang paling tertinggi yaitu dengan nilai $LC_{50} = 131$ ppm. Flavonoid, tanin, dan fenol yang merupakan senyawa yang paling aktif yang terkandung dalam daun kubis.

DAFTAR PUSTAKA

- Basset, J., . Denney., G.H. Jeffery., J. Mendham. 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisa Kuantitatif Anorganik*. Edisi keempat. Jakarta : EGC
- Bertomi R . 2011. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (Alyxiae cortex) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. [Skripsi] Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta,
- BPOM. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Secara In Vivo*. Jakarta: Menteri Hukum Dan HAM
- Cahyadi W. (2009). *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara
- Cahyono, Bambang. 1995. *Cara Meningkatkan Budidaya Kubis*. D), Jakarta : Pustaka Nusatama.
- Fadli M. 2015. *Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa (Gynura Procumbens(Luor) Merr) Terhadap Gambaran Hiptopalogis Lambung Pada Tikus Galur Sprague Dawley*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran . Lampung
- Fatimatuzzahra, F. 2013. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum Canun Sims) Terhadap Larva Artemia Salina Leach Dengan Metode Brinee Shrimp Lethality Test (BSLT)*. [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta

- Hamzah B. 2009. *Fitokimia 1*. STIFA PM. Palu
- Hanif , Z . 2012. *Uji Toksisitas Ekstrak Kasar Organospesifik Acanthaster dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Biologi. Depok: Universitas Indonesia.
- Harborne J.B. 1984. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Technique of Plant Analysis*. (2nd edn). Chapman and Hall. London. 19. Pp.37–168.
- Juniarti, Delvi Osmeli, Yuhernita. 2009. Kandungan Senyawa Kimia, uji toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksi dan (1,1-Diphenyl Pikrilhydrazyl Dari ekstrak daun saga (*Abrus Precatorius* L.) Makara Sains
- Kayne, S. B., 2010, *Introduction to Traditional Medicine* dalam: *Traditional Medicine*, Pharmaceutical Press, London, 1-2.
- Keputusan menteri kesehatan republik indonesia nomer 381/ MENKES/SK/ III/ 2007. mengenai kebijakan obat tradisional nasional.
- Lu, Frank C. 2010. *Toksikologi Dasar*. Jakarta : UI Press
- Mansur. 2008. *Toksikologi dan Distribusi Agent Toksik*. Edisi ke-2. Jakarta: UI Press.
- Notoatmodjo S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta
- Pangabeian MG . 1984. *Teknik penetasan dan pemanenan Artemia salina Leach*. Jakarta: Pusat Penelitian Ekologi Laut, Lembaga Oseonologi Nasional – LIPI
- Permenkes Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 007 Tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional
- Rahmalia A . 2013. *Pengaruh Pemberian Jus Kubis (Brassica Oleracea Var. Capitata L.) Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Makroskopis Dan Mikroskopis Hepar Tikus Wistar Jantan Yang Diinduksi Kuning Telur Ayam* . [Skripsi] . Semarang: Universitas Diponegoro .
- Sari, Permata Wulan. 2010. *Uji Toksisitas akut Campuran Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper Betle L) Terhadap Mencit Putih Jantan*. [Skripsi] . Tangerang: Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarifhidayatullah
- Subekti, NK . 2014. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Daun Laban Abang (Aglaia Elliptica Blume) terhadap Larva Udang (Artemia Salina Leach) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarifhidayatullah
- Tahira , Z. Riffat, F., et all. In- vitro assessment of antibacterial activity of methanol extract of brassica oleracea against selected bacterias.

*JLUMHS september-Desember vol
12. NO 0,2011*

Taofik, et al. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Air Daun Paitan (*Thitonia Diversifolia*) Sebagai Bahan Insektisida Botani Untuk Pengendalian Hama Tungau Eriophyidae. *Alchemy Vol. 2(1)*: 104-157.

Widyastuti. Y. 2004. *Penanganan Hasil Panen Tanaman Obat Komersil*. Edisi Revisi. Surabaya: Airlangga University Press. Halaman 17.