

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Ketapang Badak (*Ficus lyrata* Warb) terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Cytotoxic Activity Test Of Extract 96 % Ethanolic Of Ketapang Badak (*Ficus lyrata* Warb) Leaf On Shrimp Larva *Artemia Salina* Leach With *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Method

¹Meila Sumita, ²Umi Yuniarni, ³Ratuh Choesrina

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

Email: ¹meilasumita83@gmail.com, ²uyuniarni@gmail.com, ³choesrina1@gmail.com

Abstract. The research had been conducted to find out the characteristics as well as secondary metabolite contents of Ketapang Badak (*Ficus lyrata* Warb) and to find out the cytotoxic effect as well as LC₅₀ of the ethanolic extract of ketapang badak (*Ficus lyrata* Warb) on shrimp larva *Artemia salina* Leach with Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). BSLT test on ethanolic extract was conducted with test concentration 0; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400; 450; and 500 ppm. The medicinal plant specific and non-specific parameter test showed the result of ethanolic insoluble extract content of 24,44 %, water soluble extract content of 29,81 %, water content of 9,00 %, total ash content of 5,06 %, and acid-insoluble ash content of 0,62 %. Phytochemical screening, alkaloid, saponin, tannin, polyphenol, monoterpen and sesquiterpen, quinone, steroid and triterpen were detected. From the cytotoxic test, it was found that the LC₅₀ in the ethanolic extract was 136,77 ppm. Based on the data, the extract and fraction of ketapang badak cause cytotoxic on *Artemia salina* for had LC₅₀ value lower than 1000 ppm.

Keywords: Ketapang Badak, *Ficus lyrata* Warb, cytotoxic, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Abstrak. Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui karakteristik serta kandungan metabolit sekunder dari daun ketapang badak (*Ficus lyrata* Warb) Uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun ketapang badak (*Ficus lyrata* Warb) dan mengetahui aktivitas sitotoksik serta nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol daun ketapang badak (*Ficus lyrata* Warb) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pengujian BSLT pada ekstrak etanol dilakukan dengan konsentrasi 0; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400; 450 dan 500 ppm. Pengujian parameter spesifik dan non spesifik simplisia meliputi kadar sari larut etanol 24,44 % kadar sari larut air 29,81 % kadar air 9,00 %, kadar abu total 5,06 %, kadar abu tidak larut asam 0,62 %. Penapisan fitokimia terdeteksi adalah alkaloid, saponin, tanin, polifenol, monoterpen dan sesquiterpen, kuinon, steroid dan triterpen. Pengujian sitotoksik diperoleh LC₅₀ pada ekstrak etanol 96% daun ketapang badak adalah 136,77 ppm. Berdasarkan data tersebut ekstrak dari daun ketapang badak menyebabkan sitotoksik terhadap *Artemia salina* karena memiliki nilai LC₅₀ lebih rendah dari 1000 ppm.

Kata Kunci: Ketapang badak, *Ficus lyrata* Warb, sitotoksik, metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

A. Pendahuluan

Kanker merupakan penyebab tertinggi kedua di dunia menurut data Riset kesehatan dasar di Indonesia kanker menempati peringkat ketujuh (5,7%) sebagai penyebab kematian terbesar setelah stroke, hipertensi dan diabetes (Litbankes,2008). Kasus penyakit kanker yang ditemukan di Provinsi Jawa Tengah pada tahun 2011 sebanyak 19.637 kasus, meningkat bila dibandingkan dengan tahun 2010 sebanyak 13.277 kasus, terdiri dari kanker serviks 6.899 kasus (35,13%), kanker mammae 9.542 kasus (48,59%), kanker hepar 2.242 (11,42%) dan kanker paru 54 kasus (4,86) (dinkes jawa tengah, 2011)

Pada tumbuhan spesies *Ficus* diketahui mengandung glikosida flavonoid, asam fenolat, alkaloid, steroid, saponin, kumarin, tannin, dan triterpenoid (El-Hawari et al.,

2012). Pada Ekstrak etanol daun *Ficus Elastica* telah dilaporkan terdapat flavonoid dan saponin yang bersifat toksik berdasarkan uji BSLT Baraja (2008). Daun kedadai (*Ficus variegata* Blume) berperan terhadap aktivitas sitotoksik dari golongan alkaloid dan steroid (Lushaini 2015). Khanna & Kannabiran (2007) menjelaskan adanya kandungan saponin, fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, dan terpenoid dalam suatu ekstrak tumbuhan dapat memiliki aktivitas biologi. Keberadaan senyawa metabolit sekunder tersebut dapat dimanfaatkan sebagai antikanker (Wiryowidagdo, 2008; Andriyani dkk, 2006).

Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan uji sitotoksik dengan metode awal yang sering dipakai untuk mengamati toksisitas senyawa dan merupakan metode penapisan untuk aktivitas antikanker senyawa kimia dalam ekstrak tanaman adalah Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* L. yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC50 (Leta1 concentration) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Senyawa dengan LC50 < 1000 µg/ml dapat dianggap sebagai suatu senyawa aktif (Meyer, 1982). Sejauh ini penelitian tentang aktivitas sitotoksik dari daun tumbuhan *Ficus lyrata* Warb terhadap larva udang *Artemia salina* L belum dilakukan, maka kemudian dilakukan penelitian BSLT terhadap ekstrak daun tumbuhan tersebut.

Berdasarkan uraian latar belakang tersebut maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah ekstrak daun *Ficus lyrata* Warb mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* L dan berapakah nilai LC50 dari pengujian ekstrak tanaman tersebut terhadap larva udang. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak daun *Ficus lyrata* Warb terhadap larva udang *Artemia salina* L dan menentukan nilai LC50 dari ekstrak daun tumbuhan tersebut.

B. Landasan Teori

Ficus lyrata Warb merupakan tumbuhan yang berasal dari daratan Afrika Barat, tanaman ini dapat tumbuh baik di daratan rendah, sedang hingga tinggi dengan di antara kisaran suhu 230 – 380 C. Biola cantik dapat tumbuh optimum pada pH optimum yaitu 6,5 – 7,5. Biola cantik mempunyai stuktur daun yang kaku dan lebar dengan bentuk daun bulat telur dan letak daun berhadapan atau tersebar, serta mempunyai daun yang tebal dengan batang berkayu dan berbentuk batang bulat. *Ficus lyrata* Warb merupakan tanaman berumah dua, dengan bunga dalam perbungaan rasemus, dengan bunga berbentuk umbella atau bongkol, atau dalam reseptakel yang membentuk piala (Sastrapradja, 1984).

Beberapa spesies dari genus *Ficus* telah dilakukan uji toksisitas dengan metode BSLT yaitu *Ficus elastica*, *Ficus capensis*, *Ficus fitulosa*, dan *Ficus fulva* dengan nilai LC50 masing *Ficus* 277,24; 25,43; 134,03 dan 5,74 (Haikal, 2013; Muhamad Fadli 2006). Masih ada beberapa spesies dari genus *ficus* yang belum dilakukan uji toksisitasnya dengan metode BSLT diantaranya yaitu *Ficus lyrata*.

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk menentukan toksisitas suatu ekstrak ataupun senyawa. Senyawa – senyawa yang menunjukkan toksisitas tinggi dalam BSLT sering dikaitkan dengan potensinya sebagai antitumor (Sariningsih dalam Fathiyawati, 2008: 17). Senyawa dengan LC50<1000 µg/ml dapat dianggap sebagai suatu senyawa aktif berdasarkan Mayer (1982:31-34).

C. Metode Penelitian

Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun *Ficus lyrata* Warb tahap pertama dilakukan sortasi basah yaitu memisahkan daun dengan bagian tanaman lainnya dan bahan asing lainnya, dilakukan pencucian dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor, ditiriskan kemudian dilakukan pengecilan ukuran dengan cara dirajang kasar, dan kemudian dikeringkan didalam lemari pengering dengan suhu 40°C.

Penapisan Fitokimia

1. Alkaloid

Simplisia ditambahkan sebanyak 2 g dengan 5 mL amoniak 25% kemudian digerus dalam mortar, ditambahkan 20 mL kloroform dan digerus kembali dengan kuat. Campuran disaring dengan kertas saring dan filtrat diambil kemudian diteteskan pada kertas saring dan disemprot atau ditetesi dengan pereaksi Dragendorff. Warna merah jingga yang ditimbulkan pada kertas saring menunjukkan positif golongan senyawa alkaloid. Sisa larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan asam klorida 10% dan terbentuk 2 fase kemudian lapisan air dan fraksi asamnya dipisahkan kedalam dua tabung reaksi Masing-masing 5 mL, tabung pertama diuji dengan pereaksi Dragendorff, reaksi dinyatakan positif jika terbentuk endapan merah bata yang bertahan 15 menit. Tabung yang kedua di uji dengan pereaksi Mayer terbentuk endapan putih yang bertahan selama 15 menit (Farnsworth, 1966: 245).

2. Flavonoid

Simplisia sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan aquades 2 mL, kemudian dicampur dengan serbuk magnesium dan asam klorida 2 N. Selanjutnya dipanaskan di atas penangas air dan disaring. Filtrat ditambahkan amil alkohol kemudian dikocok hingga timbul warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alcohol menandakan adanya flavonoid (Farnsworth, 1966: 263-264).

3. Saponin

Simplisia dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air secukupnya lalu dipanaskan di atas penangas air selama 30 menit, dan disaring. Filtrat kemudian dibiarkan sampai dingin, lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik dengan arah vertikal. Timbulnya busa setinggi kurang lebih 1 cm yang bertahan selama 10 menit menandakan adanya saponin (Farnsworth, 1966: 257).

4. Tanin

Simplisia sebanyak satu spatel dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan aquades 2 mL, kemudian dipanaskan di atas penangas air dan disaring. Filtrat hasil penyaringan kemudian ditambahkan larutan gelatin 1% sebanyak 3-4 tetes, bila ada endapan putih itu menandakan adanya tanin (Farnsworth, 1966: 264).

5. Kuinon

Simplisia 1 g ditempatkan pada tabung reaksi dan ditambahkan aquades 2 mL, kemudian dipanaskan diatas penangas air, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan larutan NaOH 5% apabila membentuk warna jingga menandakan positif kuinon (Farnsworth, 1966: 265).

6. Steroid Dan Triterpenoid

Simplisia sebanyak 1 g digerus dengan eter lalu disaring. Filtrat ditempatkan dalam cawan penguap kemudian dibiarkan menguap sampai kering. Kedalam cawan penguap ditambahkan 3-4 tetes larutan pereaksi Liebermann-Burchard. Terjadinya warna merah-ungu menandakan positif triterpenoid, sedangkan warna hijau-biru menunjukkan positif steroid (Farnsworth, 1966: 257).

7. Monoterpen Dan Sesquiterpen

Simplisia sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam mortar, digerus kemudian ditambah eter dan disaring. Filtrat ditempatkan dalam cawan penguap dan dibiarkan sampai kering, selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes larutan vanillin 10% dalam asam sulfat pekat. Timbulnya warna-warna itu menunjukkan adanya senyawa monoterpen dan sesquiterpen (Depkes RI, 1977:132).

Ekstraksi

Simplisia kering daun ketapang badak (*Ficus lyrata* Warb) ditimbang sebanyak 300 gram dimasukkan kedalam labu bundar kemudian ditambahkan etanol 96% sampai simplisia terendam. Labu bundar diset dengan alat refluks, kemudian dipanaskan dengan suhu 78°C. Kemudian ekstraksi disaring dan ditampung, sedangkan ampas serbuk simplisia di rendam kembali dengan pelarut etanol 96%. Proses ekstraksi refluk ini diulang sebanyak 3 kali dan setiap kali dieksrak selama 4 jam. Kemudian dilakukan pemekatan ekstrak etanol dengan rotary vacuum evaporator dan dilanjutkan pengeringan dengan menggunakan penangas air.

Pengujian Sitotoksik Dengan Metode Brine Shrimp Lethality

1. Penyiapan Penetasan Telur Udang *Artemia salina* Leach

Telur udang *Artemia salina* Leach diambil sebanyak 500 mg dimasukkan kedalam wadah penetasan direndam dengan air laut buatan. Air laut buatan dibuat dengan cara 38 gram NaCl tanpa iodium dalam 1 Liter aquadest. Kemudian wadah penetasan yang sudah berisi air laut buatan diletakan di bawah cahaya lampu dan dilengkapi dengan aerator. Telur didiamkan selama 48 jam sampai menetas menjadi larva. Setelah 48 jam larva siap digunakan untuk uji sitotoksik dengan metode BSLT. (Colegate dan Russel, 1993).

2. Persiapan Larutan

Larutan stok dibuat 500 ppm dengan menimbang 50 mg ekstrak etanol 96 %, kemudian dilarutkan didalam 100 mL air laut buatan. Larutan uji dibuat dalam konsentrasi 500; 450; 400; 350; 300; 250; 200; 150; 100; 50 dan 0 ppm. 0 pppm sebagai larutan kontrol.

3. Uji Sitotoksik

Sebanyak larutan uji dengan berbagai konsentrasi dan 10 larva *Artemia salina* ditambahkan ke dalam vial-vial dan dimasukka 1 tetes ragi (3 mg dalam 5ml air laut) di tambahkan air laut sampai 5 ml. Vial-vial uji tersebut diletakan dibawah penerangan selama 24 jam, Setiap larva yang mati dari masing-masing konsentrasi dihitung dan dicatat jumlahnya. Aktivitas sitotoksik ditentukan dengan menghitung LC₅₀ dengan mortalitas probit. Berdasarkan data probit yang diperoleh, maka dapat ditentukan aktivitas sitotoksiknya. (McLaughlin, 1998).

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pada penelitian metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi Reflux. Refluks merupakan metode ekstraksi dengan bantuan panas. Pemilihan metode ekstraksi Refluks untuk mendapatkan rendemen yang tinggi karena suhu merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kecepatan ekstraksi, Suhu yang tinggi dapat meningkatkan desorpsi senyawa aktif dari tanaman karena perusakan sel pada bahan meningkat akibat suhu pelarut yang tinggi dan ekstraksi menggunakan metode refluks waktunya lebih singkat (Jain et al., 2009). Hasil ekstraksi etanol yang dipekatkan sebanyak 9,88 gram dengan nilai rendemen 14,114 %. Perhitungan rendemen ekstrak etanol dapat dilihat di.

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan metode penapisan farmakologi awal yang sederhana untuk menentukan toksisitas suatu senyawa atau ekstrak. Beberapa kelebihan dari uji bioaktivitas dengan Brine shrimp Lethality test (BSLT) adalah waktu pengujian cepat, mudah, tidak memerlukan peralatan khusus, sederhana, murah, jumlah organisme banyak, metode BSLT sering digunakan dalam tahap awal isolasi senyawa toksik yang terkandung didalam suatu ekstrak, dapat dipercaya karena telah teruji hasilnya dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengamati toksisitas suatu senyawa didalam ekstrak, metode ini juga merupakan skrining awal senyawa yang berpotensi sebagai anti kanker dengan parameter LC50 (Mayer et al, 1982 ; Lisdawati dkk, 2006: 113-114).

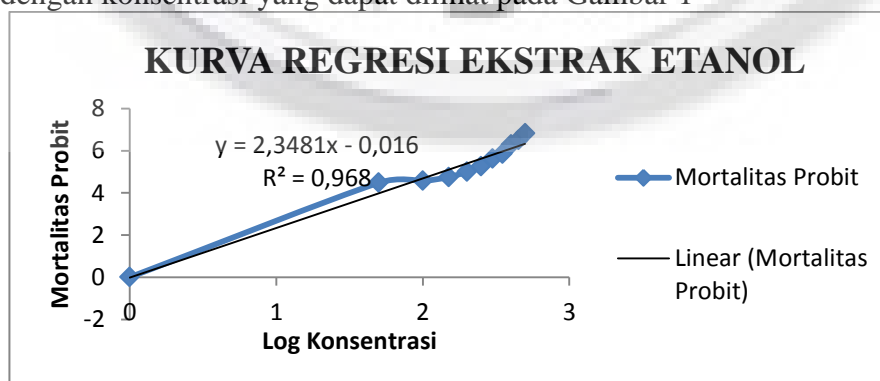
Pada penelitian digunakan beberapa variasi konsentrasi yang berbeda yaitu 50; 100; 150; 200; 250; 300; 350; 400; 450; dan 500 ppm ekstrak etanol daun ketapang badak, Variasi konsentrasi ini dibuat agar dapat membandingkan toksisitas dari ekstrak etanol daun biola cantik. Untuk kontrol digunakan hanya air laut tanpa penambahan ekstrak. Kontrol berfungsi untuk melihat pengaruh lain diluar ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian nauplius. Hasil pengujian sitotoksik dapat dilihat pada masing-masing konsentrasi uji pada TABEL V.2

Tabel 1. Hasil Pengujian Aktivitas Sitotoksik

vial	konsentrasi (ppm)										
	0	50	100	150	200	250	300	350	400	450	500
1	0	3	3	4	5	6	7	8	9	9	10
2	0	3	4	4	5	6	7	8	9	10	9
3	0	3	3	4	5	6	8	8	9	9	10
Jumlah	0	9	10	12	15	18	22	24	27	28	29
Rata-rata	0	3	3,333	4	5	6	7,33	8	9	9,333	9,666

Tabel 1 menunjukkan jumlah kematian larva dengan berbagai konsentrasi yang berbeda. Pada konsentrasi 0 (kontrol) tidak terdapat kematian. Pada kelompok konsentrasi ekstrak kematian larva ditunjukkan mulai dari konsentrasi 50 ppm. Berdasarkan tabel tersebut dapat diketahui bahwa kematian larva mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi uji, hal ini menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik dari masing-masing sediaan uji.

Setelah didapat jumlah kematian larva, kemudian dilakukan perhitungan LC50 pada ekstrak tersebut. Untuk memperoleh nilai LC50 dibuat grafik antara mortalitas probit dengan konsentrasi yang dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Grafik antara Mortalitas Probit dengan Konsentrasi

Menurut Mayer dkk (1982) ketoksikan ekstrak ditentukan dengan melihat harga LC50. Jika LC50 dari ekstrak dibawah 30 ppm maka sangat toksik, jika ekstrak memiliki LC50 antara 30-1000 ppm maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak tersebut toksik dan lebih dari 1000 ppm maka ekstrak tersebut tidak toksik. Makah semakin besar LC50 dari suatu ekstrak akan semakin kecil letak sitotoksiknya.

Berdasarkan hasil analisis uji sitotoksik terlihat bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, mortalitas pada *Artemia* juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan Harborne (1994) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya semakin tinggi. Nilai LC50 ekstrak etanol 96% yang didapatkan dari persamaan regresi linear pada grafik yaitu 136,77 ppm. Perhitungan LC50.

Hasil analisis disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun biola cantik toksik, dapat menyebabkan kematian terhadap *Artemia salina* Leach karena memiliki nilai LC50 lebih kecil dari 1000 ppm. Ekstrak etanol daun biola cantik bersifat toksik terhadap *Artemia Salina* leach karena mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Flavonoid mempunyai aktivitas larvasida dengan menghambat kerja sistem endokrin dan mencegah pelepasan enzim pencernaan, sehingga laju pertumbuhan berkurang (Innocent *et al.*, 2008). Sedangkan sifat toksik saponin disebabkan karena saponin dapat merusak membran sel akibat sifat deterjen yang dimilikinya dapat menurunkan tegangan permukaan fase air dan minyak pada membran (Francis *et al.*,2002). Tanin pada umumnya menghambat aktivitas enzim dengan jalan membentuk ikatan kompleks dengan protein pada enzim substrat yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan merusak dinding sel, sehingga mekanisme kerja tanin sebagai racun perut. Saponin dapat menurunkan aktivitas enzim pencernaan serta penyerapan makanan (*stomach poisoning*). Steroid dan triterpenoid tersebut juga dapat bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut yang dapat mengganggu pencernaan. 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 (Francis *et al.*,2002).

E. Kesimpulan

Pada ekstraksi etanol daun Ketapang badak(*Ficus lyrata* Warb. mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, falvonoid, kuinon, steroid dan triterpenoid, monoterpen dan seskuiterpen dan polifenolat. Ekstrak etanol daun biola cantik (*Ficus lyrata* Warb) terbukti memiliki aktivitas sitotoksik. Nilai LC50 ekstrak etanol tumbuhan tersebut kurang dari 1000 ppm, yaitu ekstrak etanol 136,77 ppm

F. Saran

Dari hasil penelitian diketahui bahwa ekstraksi etanol daun biola ketapang badak (*Ficus lyrata* Warb) berpotensi sebagai antikanker maka dari itu penelitian dapat dilanjutkan mengenai aktivitasnya terhadap sel kanker dengan metode yang lebih spesifik yaitu metode kultur sel kanker. Disamping itu perlu juga dilakukan lebih lanjut mengenai senyawa spesifik dari daun biola cantik yang berperan dalam aktivitas sitotoksik.

Daftar Pustaka

- Andriyani, S., (2006), Isolasi Karakterisasi dan Uji Aktivitas dengan Metode BSLT Komponen Kimia Ekstrak Etanol Herba Cakar Ayam (*S. doederleinii* H.), FFUP, Jakarta.
- Arif SH. (2013). Potensi Biolarvasida Ekstrak Etanol Kulit Batang Kurut India (*Ficus elastica* Noeis Ex Blume) dan Uji Toksisitasnya dengan Metode BSLT . [skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Arif Sofyan H. (2013). Potensi Biolarvasida Ekstrak Etanol Kulit Batang Karet India (*Ficus elastica* Nois Ex Blume) Dan Uji Toksisitasnya Dengan Metode Brine Shrimps Lethality Test. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah, Surakartas.Hal 12
- Backer, A. C. and R. C. Bakhuizen van den Brink. (1965). Flora of Java. Volume II. Angiospermae.N. V. P. Noordoff Groningen The Netherlands.
- Baraja, M.. (2008). Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus Elastica* Nois ex Blume Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi lapis Tipis.[Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Colegate, S.M., and Russel, J.M. (1993). Bioctive Natural Product, Detection, Isolation, and Structural Determination. Boca Raton USA, CRC Press.
- De padua, L. S., N. Bunyaphatsara and Lemmens, R. H. M. J. (1999). "Pule Pandak"PROSEA Plant Resources of South-East Asia. Bogor.
- Departemen Kesehatan RI (1977). Matrial Medika Indonesia,Jilid 1, Direktur Jendral Pengawasan Obat dan Makanan . Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan. Jakarta.
- Dinkes Jawa Tengah, (2011), Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, <http://www.dinkesjatengprov.go.id/dokumen/profil/profil2011/BAB%20IVI%202011.pdf>.(Diakses tanggal 20 Juli 2017)
- DumitruseunM. *Artemia salina* . Balneo-Research Journal. (2011); 2(4): 119-22.
- El-Hawary, S.S., Wassel, G.M., El-Menshawy, B.S., Ibrahim, N.A., Mahmoud, K., & Ayoub, M.M.. (2012). Antitumor and Antioxidant Activity of *Ficus elastica* Roxb. and *Ficus Bengalensis* Linn. Family Moraceae. World Applied Sciences Journal, 19(11) Hlm 1532-1539
- El-Hawary, K. A., Abbas, S. A., Elsayed, A. A., & Zalata, R. K. (2012). Molecular Subtypes of Breast Carcinoma in Egyptian Women : Clinicopathological Features. Patology – Research Practice,vol.28,pp. 382–386.
- Ersam, T. (2004). Keunggulan Biodiversitas Hutan Tropika Indonesia Dalam Merekayasa Model Molekul Alami. Prosiding Seminar Nasional KimiaVI. ITS.Surabaya. Hlm 4-12.
- Fadli Muhamad. (2006). Uji Bioaktivitas Zat Ekstraktif Kayu Beuying (*Ficus fistulosa* Reinw) dan Hamerang (*Ficus fulva* Reinw) Menggunakan Brine Shrimp Lwthality Test. [Skripsi]. Fakultas Kehutanan IPB, Bogor. Hal 36.
- Farnsworth, N.R. (1996). Biological and Phytochemical Screening Of Plants. Journal Of Pharmaceutiucal Sciences, Volume 55 Number 3. American pharmaceutical Association. America.
- Fathiyawati. (2008) Uji Toksisitas Daun Fikus *racemosa* L. Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis [skripsi]. Fakultas Universitas

Muhamadiyah Surakarta.

- Francis, G., Zohar, K., Harinder, P.S.M., & Becker, K. (2002). The Biological Action of Saponins in Animal Systems: A Review, *British Journal of Nutrition*, 8 Pp 587-605.
- Guntarti. A., Sholeha, K., irna, N., Fistianingrum, W. (2015). Penentuan Parameter Non Spesifik Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana*) Pada Variasi Asal Daerah, *Farmasains Vol 2 (5)*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Harborne, J.B., (1997). *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua, ITB, Bandung.
- Hooker, J. D. (1982). *Flora of British India*. Vol.V. Binshen Singh Mahendra Pal Singh. India.
- Innocent, E., Joseph, C.C., Nicholas, K.N., Mayunga, H.H., & Hassanali, A. (2009). Growth disruption activity of polar extracts from *Kotschy uguenensis* (Fabaceae) Against *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera : Culicidae) larvae. *International Journal of Tropical Insect Science*, 28(4), pp.220-224.
- Irawan, B., (2010). Peningkatan Mutu Minyak Nilam dengan Ekstraksi dan Destilasi pada Berbagai Komposisi Pelarut. Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia.
- Isnansetyo, A. Dan Kurniastuty. (1995). Teknik kultur phytoplankton dan zooplankton: pakan alami ikan untuk pembenihan organisme laut. Penerbit kanisius, yogyakarta.
- Jain, T., Jain, V., Pandey, R., Vyas, A., & Shukla, S. S. (2009). Microwave Assisted Extraction for Phytoconstituents – An Overview. *Asian Journal Research Chemistry*, 1 (2), 19-25.
- Katno. (2008). *Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BP2PT0-0T), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI. Tawangmawung.
- Kochmmen, K. M. (1978). *Moraceae in tree flora of Malaya*. Vol. Three Longman group Limited. London.
- Lisdawati, V., Wiryowidgdo, S., Kardono, L.B.S (2006). Brine Shrimp Lethality test (BSLT) Dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah dan Kulit Biji Mahkota Dewa. Departemen Farmasi UI.
- Loutfy, M. H. A., E. A. K. Karakist, S. F. Khalifa, and E. R.A. Mira. (2005). Numerical taxonomic evaluation of leaf architecture of some species of genus *Ficus* L. *International journal of agriculture and biology*. 1560–8530/2005/07–3–352–357.
- Lushaini,S., Wibowo,M.A., Ardiningsih,P. (2015). Kandungan Total Fenol, Aktivitas Antioksidan dan Sitotoksik Daun Kedadai (*Ficus variegata*Blume). *JKK.4(2)*: 1-5
- Marianne, Yuandani dan Rosnani. (2011). „Antidiabetic Activity From Ethanol Extract of Kluwih’s Leaf (*Artocarpus camansi*)“, *Jurnal Natural Universitas Syiah Kuala*, Vol. 11, No.2, p 64-68.
- Mayer, B.N., ferrigni, N.R., Putman, J.E., Jacobsen, L.B., Nicols, D.E. and Mclaughlin, J.L. (1982). Brine Shrimp : A Comvenient General Bioassay For Active Plant Constituents. *Plant Medica*.
- 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 Plant Biochemistry* 6 (1): 1-30.

Merril, E. D. (1974). *A Flora of Manila*. The Bookmark, inc. Manila.

Mudjiman, A (2004). *Makanan ikan*. Edisi Revisi, Penebar Swadaya, Jakarta

Mudjiman, A. (1989). *Udang Renik Air Asin (Artemia Salina Leach)*. Penerbit Bharata, Jakarta.

Prashant, et al. (2011). *Phytochemical Screening and Extraction: A Review*, *Internationale Pharmaceutica Scientia*, Vol. 1, Issue 1.

Prijono, J. (1988). *Pengujian Insektisida*. Fakultas Pertanian IPB, Bogor.

