PENENTUAN NILAI LC_{50} EKSTRAK ETANOL 98% HERBA RUMPUT TEKI (*CYPERUS ROTUNDUS* L.) MELALUI PENGUJIAN TERHADAP LARVA ARTEMIA SALINA L.

Haryanto[1]*, Umniyah Nabila[2], Alfina Triwahyuni[3], Wa Ode Keyza Azhara[4], Ihda Durratunnafisa[5], Sulaiman[6]

[1,2,3,4,5,6]*Universitas Muhammadiyah Makassar*
E-mail : haryanto@unismuh.ac.id

ABSTRAK

Rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia dan telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional karena mengandung berbagai metabolit sekunder yang berpotensi memberikan aktivitas farmakologis. Meskipun demikian, informasi mengenai tingkat keamanan dan toksisitas ekstrak etanol herba rumput teki masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan nilai Lethal Concentration 50 (LC_{50}) ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan menggunakan variasi konsentrasi ekstrak sebesar 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 5000 ppm, dan 10.000 ppm. Parameter yang diamati adalah jumlah kematian larva setelah masa inkubasi 24 jam. Data mortalitas dianalisis menggunakan metode Reed-Muench dan probit untuk menentukan nilai LC50. Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase mortalitas larva meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, yaitu 0% pada konsentrasi 0 ppm dan 10 ppm, 4,16% pada 100 ppm, 33,33% pada 500 ppm, 47,36% pada 1000 ppm, 89,47% pada 5000 ppm, dan 100% pada 10.000 ppm. Peningkatan mortalitas tersebut menunjukkan adanya hubungan dosis-respons yang jelas antara konsentrasi ekstrak dan kematian larva *Artemia salina* Leach. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 98% herba rumput teki memiliki aktivitas toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai 980 ppm (kategori moderat / toksik sedang) dan berpotensi mengandung senyawa bioaktif yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bidang farmasi.

Kata Kunci : *Artemia Salina Leach, BSLT, Cyperus Rotundus L., LC50, Toksisitas.*

ABSTRACT

Rumput Teki (Cyperus rotundus L.) is a plant widely found in Indonesia and has long been used in traditional medicine due to its content of various secondary metabolites that possess potential pharmacological activities. Nevertheless, information regarding the safety profile and toxicity of the ethanol extract of nutgrass herb remains limited. Therefore, this study aimed to determine the Lethal Concentration 50 (LC_{50}) value of the 98% ethanol extract of nutgrass herb (Cyperus rotundus L.) against Artemia salina Leach larvae using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The research was conducted using an experimental laboratory approach with extract concentrations of 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1,000 ppm, 5,000 ppm, and 10,000 ppm. The observed parameter was the number of larval deaths after a 24-hour incubation period. Mortality data were analyzed using the Reed-Muench and probit methods to determine the LC_{50} value. The results showed that the percentage of larval mortality increased with increasing extract concentration, with mortality rates of 0% at 0 ppm and 10 ppm, 4.16% at 100 ppm, 33.33% at 500 ppm, 47.36% at 1,000 ppm, 89.47% at 5,000 ppm, and 100% at 10,000 ppm. This increase in mortality indicated a clear dose-response relationship between extract concentration and the death of Artemia salina Leach larvae. The findings demonstrated that the 98% ethanol extract of nutgrass herb exhibited toxic activity against Artemia salina Leach larvae with an LC_{50} value of 980 ppm (moderately toxic category), suggesting its potential to contain bioactive compounds that could be further developed in the pharmaceutical field..

Keywords : *Artemia Salina Leach, BSLT, Cyperus Rotundus L., LC50, Toxicity.*

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara megabiodiversitas yang memiliki kekayaan sumber daya hayati sangat besar, termasuk berbagai jenis tanaman yang berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional maupun obat modern berbasis bahan alam. Pemanfaatan tanaman obat oleh masyarakat telah berlangsung selama berabad-abad dan hingga saat ini masih menjadi bagian penting dalam sistem pelayanan kesehatan, baik sebagai terapi utama maupun terapi pendamping. Meningkatnya minat masyarakat terhadap penggunaan obat herbal mendorong berkembangnya berbagai penelitian yang bertujuan mengidentifikasi kandungan senyawa aktif, aktivitas farmakologi, serta aspek keamanan dari tanaman obat. Dalam bidang farmasi, keamanan merupakan salah satu parameter utama yang harus dibuktikan secara ilmiah sebelum suatu bahan alam dapat direkomendasikan untuk penggunaan yang lebih luas. Oleh karena itu, pengujian toksisitas menjadi tahapan penting dalam proses pengembangan bahan alam menjadi produk farmasi yang aman, efektif, dan bermutu. Meskipun bahan alam sering dianggap lebih aman dibandingkan obat sintetis, asumsi tersebut tidak selalu benar. Berbagai tanaman diketahui mengandung metabolit sekunder yang dapat memberikan efek farmakologis sekaligus berpotensi menimbulkan efek toksik apabila digunakan pada dosis tertentu. Keberadaan senyawa alkaloid, terpenoid, flavonoid, saponin, maupun senyawa fenolik dalam tanaman dapat menghasilkan aktivitas biologis yang beragam, mulai dari aktivitas antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, hingga sitotoksik. Oleh sebab itu, setiap bahan alam yang berpotensi dikembangkan sebagai sumber obat perlu melalui serangkaian pengujian keamanan untuk memastikan bahwa manfaat yang diperoleh lebih besar dibandingkan risiko yang mungkin ditimbulkan. Informasi mengenai tingkat toksisitas suatu ekstrak tidak hanya berguna dalam menentukan batas keamanan penggunaan, tetapi juga dapat menjadi indikator awal adanya senyawa bioaktif yang memiliki prospek untuk dikembangkan sebagai kandidat obat baru.

Salah satu tanaman yang menarik untuk diteliti dalam bidang farmasi adalah rumput teki (*Cyperus rotundus* L.). Tanaman ini termasuk famili Cyperaceae dan tumbuh secara luas di daerah tropis maupun subtropis. Di Indonesia, rumput teki sering ditemukan di lahan pertanian, perkebunan, pekarangan, maupun lahan kosong sehingga keberadaannya lebih dikenal sebagai gulma dibandingkan tanaman obat. Pertumbuhan yang cepat, daya adaptasi yang tinggi, dan kemampuannya bersaing dengan tanaman budidaya menyebabkan rumput teki sering dianggap sebagai tanaman pengganggu yang harus dikendalikan. Namun, di balik statusnya sebagai gulma, rumput teki memiliki potensi farmakologis yang cukup besar karena mengandung berbagai metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologis tanaman tersebut. Berbagai penelitian melaporkan bahwa *Cyperus rotundus* mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenol, glikosida, serta berbagai komponen minyak atsiri yang berkontribusi terhadap aktivitas farmakologinya. Kandungan metabolit sekunder tersebut diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, analgesik, antidiabetes, hepatoprotektif, dan bahkan berpotensi sebagai agen antikanker. Keberadaan senyawa-senyawa bioaktif tersebut menunjukkan bahwa rumput teki memiliki peluang besar untuk dikembangkan sebagai sumber bahan baku obat herbal maupun fitofarmaka. Akan tetapi, pengembangan suatu tanaman sebagai bahan farmasi tidak hanya memerlukan data aktivitas biologis, tetapi juga harus didukung oleh data keamanan yang memadai. Tanpa adanya informasi mengenai tingkat toksisitas, pemanfaatan tanaman obat secara luas berpotensi menimbulkan risiko bagi kesehatan masyarakat.

Dalam penelitian farmasi, pengujian toksisitas awal atau *preliminary toxicity screening* merupakan salah satu pendekatan yang banyak digunakan untuk mengevaluasi keamanan bahan alam. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu ekstrak dalam menimbulkan efek biologis yang dapat menyebabkan kematian organisme uji pada konsentrasi tertentu. Salah satu metode yang paling banyak digunakan dalam skrining awal toksisitas adalah Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Metode ini memanfaatkan larva udang renik *Artemia salina* Leach sebagai organisme uji untuk mengevaluasi tingkat toksisitas suatu ekstrak berdasarkan persentase kematian larva setelah periode paparan tertentu. Hasil pengujian kemudian digunakan untuk menghitung nilai Lethal Concentration 50 (LC50), yaitu konsentrasi ekstrak yang mampu menyebabkan kematian 50% populasi larva uji.

Metode BSLT banyak dipilih dalam penelitian bahan alam karena memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan metode toksisitas lainnya. Menurut Banti dan Hadjikakou (2021), pengujian menggunakan *Artemia salina* merupakan metode yang sederhana, cepat, ekonomis, mudah direproduksi, serta tidak memerlukan peralatan laboratorium yang kompleks. Selain itu, jumlah sampel yang dibutuhkan relatif sedikit sehingga sangat sesuai digunakan sebagai metode skrining awal terhadap berbagai jenis ekstrak tanaman. Keunggulan tersebut menjadikan metode BSLT sebagai salah satu pendekatan yang paling populer dalam penelitian farmasi, terutama pada tahap eksplorasi awal bahan alam yang berpotensi memiliki aktivitas biologis. Nilai penting dari metode BSLT tidak hanya terletak pada kemampuannya dalam mengevaluasi toksisitas, tetapi juga pada korelasinya dengan berbagai aktivitas biologis lainnya. Penelitian yang dilakukan oleh Carballo et al. (2002) menunjukkan bahwa hasil pengujian menggunakan *Artemia salina* memiliki hubungan yang cukup baik dengan aktivitas sitotoksik yang diamati pada pengujian kultur sel. Temuan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak yang memiliki tingkat toksisitas tinggi pada metode BSLT berpotensi mengandung senyawa aktif yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen antitumor atau antikanker. Dengan demikian, metode BSLT tidak hanya berfungsi sebagai alat evaluasi keamanan, tetapi juga dapat digunakan sebagai metode skrining awal untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa bioaktif yang memiliki nilai farmakologis tinggi.

Penggunaan metode BSLT dalam penelitian bahan alam telah berkembang secara luas di berbagai negara karena kemampuannya dalam memberikan gambaran awal mengenai aktivitas biologis suatu ekstrak. Hamidi et al. (2014) menjelaskan bahwa *Artemia salina* merupakan organisme uji yang sensitif terhadap berbagai senyawa kimia sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi efek toksik dari ekstrak tanaman secara cepat dan efisien. Selain itu, hasil pengujian BSLT dapat digunakan untuk mengklasifikasikan tingkat toksisitas suatu bahan berdasarkan nilai LC50 yang diperoleh. Semakin kecil nilai LC50 yang dihasilkan, maka semakin tinggi tingkat toksisitas ekstrak tersebut. Sebaliknya, nilai LC50 yang lebih besar menunjukkan tingkat toksisitas yang lebih rendah. Informasi ini sangat penting dalam menentukan keamanan penggunaan bahan alam dan menjadi dasar dalam perencanaan penelitian lanjutan. Di Indonesia, metode BSLT telah banyak diaplikasikan dalam penelitian berbagai tanaman obat. Handayani et al. (2022) melaporkan bahwa ekstrak etanol batang kayu wole woe menunjukkan aktivitas toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan nilai LC50 yang mengindikasikan adanya kandungan senyawa bioaktif. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa metode BSLT mampu memberikan informasi awal mengenai potensi biologis suatu ekstrak secara efektif. Temuan serupa juga dilaporkan oleh Mastura et al. (2022) yang melakukan pengujian toksisitas terhadap beberapa tanaman asal Aceh menggunakan metode BSLT. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa setiap tanaman memiliki tingkat toksisitas yang berbeda-beda sesuai dengan jenis dan konsentrasi metabolit sekunder yang

terkandung di dalamnya. Perbedaan nilai LC50 yang diperoleh mengindikasikan bahwa karakteristik kimia suatu tanaman sangat berpengaruh terhadap aktivitas biologis yang dihasilkan.

Meskipun penelitian mengenai toksisitas ekstrak tanaman menggunakan metode BSLT telah banyak dilakukan, kajian yang secara khusus mengevaluasi nilai LC50 ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) masih relatif terbatas. Sebagian besar penelitian yang tersedia lebih banyak berfokus pada identifikasi kandungan fitokimia dan aktivitas farmakologis tanaman tersebut, sementara informasi mengenai profil toksisitasnya masih belum banyak dilaporkan. Padahal, data toksisitas merupakan salah satu komponen penting dalam pengembangan bahan alam sebagai kandidat obat. Keterbatasan informasi tersebut menunjukkan adanya kebutuhan untuk melakukan penelitian yang dapat memberikan data ilmiah mengenai tingkat keamanan ekstrak rumput teki, khususnya yang diekstraksi menggunakan etanol 98%. Pemilihan etanol 98% sebagai pelarut dalam penelitian ini didasarkan pada kemampuannya dalam mengekstraksi berbagai senyawa metabolit sekunder yang bersifat semi-polar hingga nonpolar. Penggunaan pelarut dengan konsentrasi tinggi memungkinkan diperolehnya ekstrak yang mengandung komponen bioaktif dalam jumlah lebih besar, sehingga potensi aktivitas biologis maupun efek toksik yang dimiliki ekstrak dapat diamati secara lebih jelas. Oleh karena itu, evaluasi terhadap nilai LC50 ekstrak etanol 98% herba rumput teki menjadi penting untuk memberikan gambaran mengenai tingkat toksisitas ekstrak serta potensi biologis yang dimilikinya.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menentukan nilai LC50 ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) melalui pengujian terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai tingkat toksisitas ekstrak, menjadi dasar dalam evaluasi keamanan penggunaan rumput teki sebagai bahan alam farmasi, serta memberikan kontribusi terhadap pengembangan penelitian lebih lanjut terkait potensi farmakologis tanaman ini sebagai sumber senyawa bioaktif yang bernilai terapeutik.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk menentukan nilai Lethal Concentration 50 (LC50) ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Metode BSLT dipilih karena merupakan salah satu metode skrining toksisitas awal yang sederhana, cepat, ekonomis, serta memiliki sensitivitas yang baik dalam mendeteksi aktivitas biologis dan toksisitas senyawa yang terkandung dalam bahan alam. Selain digunakan untuk mengevaluasi tingkat keamanan suatu ekstrak, metode ini juga banyak dimanfaatkan sebagai tahap awal dalam pencarian senyawa bioaktif yang berpotensi dikembangkan sebagai agen farmakologis. Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) yang diperoleh melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 98%. Organisme uji yang digunakan adalah larva *Artemia salina* Leach yang berasal dari telur *Artemia salina* yang ditetaskan dalam media air laut buatan. Bahan lain yang digunakan meliputi air laut buatan, aquadest, dan bahan pendukung laboratorium lainnya. Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi timbangan analitik, gelas ukur, gelas beker, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, batang pengaduk, vial atau tabung uji, wadah penetasan larva, aerator, lampu penetas, serta peralatan laboratorium lainnya yang mendukung pelaksanaan penelitian.

Sebelum dilakukan pengujian, telur *Artemia salina* Leach ditetaskan terlebih dahulu dalam wadah yang berisi air laut buatan. Proses penetasan dilakukan dengan pemberian aerasi dan pencahayaan secara terus-menerus selama kurang lebih 48 jam. Setelah telur menetas, larva yang aktif bergerak dipisahkan dari cangkang telur dan digunakan sebagai hewan uji. Larva yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva berumur 48 jam karena pada umur tersebut larva telah memiliki perkembangan organ yang cukup baik dan menunjukkan sensitivitas yang optimal terhadap senyawa toksik. Ekstrak etanol 98% herba rumput teki kemudian dibuat dalam beberapa variasi konsentrasi untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan tingkat kematian larva. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 5000 ppm, dan 10.000 ppm, sedangkan kelompok kontrol dibuat tanpa penambahan ekstrak. Setiap konsentrasi disiapkan melalui proses pengenceran hingga diperoleh larutan uji dengan konsentrasi yang diinginkan. Masing-masing larutan uji dimasukkan ke dalam wadah perlakuan yang telah disiapkan dan diberi label sesuai kelompok konsentrasi.

Pengujian toksisitas dilakukan dengan memasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* Leach ke dalam setiap wadah perlakuan yang berisi larutan ekstrak pada berbagai konsentrasi. Seluruh kelompok perlakuan dipelihara pada kondisi lingkungan yang sama untuk meminimalkan pengaruh faktor luar terhadap hasil penelitian. Larva kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang tanpa pemberian pakan. Setelah masa inkubasi berakhir, dilakukan pengamatan terhadap jumlah larva yang hidup dan mati pada masing-masing kelompok perlakuan. Penentuan kematian larva dilakukan berdasarkan tidak adanya pergerakan tubuh larva selama beberapa detik pengamatan meskipun telah diberikan rangsangan ringan menggunakan pipet atau batang pengaduk. Larva yang masih menunjukkan aktivitas gerak dikategorikan sebagai larva hidup, sedangkan larva yang tidak menunjukkan respons gerakan dikategorikan sebagai larva mati. Jumlah larva hidup dan mati pada setiap konsentrasi dicatat untuk selanjutnya digunakan dalam perhitungan persentase mortalitas.

Persentase kematian larva dihitung dengan membandingkan jumlah larva yang mati terhadap jumlah total larva yang digunakan pada setiap kelompok perlakuan, kemudian dikalikan 100%. Data persentase kematian yang diperoleh digunakan sebagai dasar dalam menentukan hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan respons biologis yang ditimbulkan terhadap larva *Artemia salina* Leach. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka semakin besar peluang terjadinya kematian larva apabila ekstrak tersebut mengandung senyawa yang bersifat toksik. Penentuan nilai LC50 dilakukan menggunakan metode Reed-Muench dan analisis probit. Metode Reed-Muench digunakan untuk memperkirakan konsentrasi ekstrak yang mampu menyebabkan kematian 50% populasi larva berdasarkan data kumulatif mortalitas dan kelangsungan hidup organisme uji. Metode ini banyak digunakan dalam penelitian toksikologi karena mampu memberikan estimasi nilai LC50 secara sederhana berdasarkan distribusi respons biologis yang diamati.

Selain metode Reed-Muench, data mortalitas juga dianalisis menggunakan metode probit untuk memperoleh estimasi nilai LC50 yang lebih akurat. Pada analisis probit, data persentase kematian larva terlebih dahulu dikonversi menjadi nilai probit, sedangkan konsentrasi ekstrak diubah ke dalam bentuk logaritma. Hubungan antara log konsentrasi dan nilai probit dianalisis menggunakan persamaan regresi linier sehingga diperoleh model matematis yang menggambarkan respons kematian larva terhadap peningkatan konsentrasi ekstrak. Nilai LC50 kemudian ditentukan pada nilai probit 5 yang merepresentasikan kematian 50% populasi larva uji dan selanjutnya dikonversi kembali ke dalam satuan konsentrasi (ppm). Nilai LC50 yang diperoleh

digunakan untuk mengevaluasi tingkat toksisitas ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.). Semakin kecil nilai LC50 yang dihasilkan, maka semakin tinggi tingkat toksisitas ekstrak terhadap larva *Artemia salina* Leach. Sebaliknya, semakin besar nilai LC50 yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai profil toksisitas awal ekstrak etanol 98% herba rumput teki serta menjadi dasar bagi penelitian lanjutan terkait keamanan penggunaan dan potensi pengembangan tanaman tersebut sebagai sumber bahan baku farmasi berbasis bahan alam.

Tabel 1. Kategori Toksisitas

Kategori Toksisitas	Nilai LC_{50} (mg/L)
< 1	Sangat Beracun
1 -100	Beracun
100 – 1000	Moderat/Racun Sedang
1000– 10.000	Sedikit Beracun
10.000 – 100.000	Hampir Tidak Beracun
> 100.000	Tidak Beracun

(Haryanto, *et al*., 2023)

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach setelah Pemberian Ekstrak Etanol 98% Herba Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.)

Pengujian toksisitas ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) terhadap larva *Artemia salina* Leach dilakukan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak dalam menyebabkan kematian organisme uji pada berbagai tingkat konsentrasi. Mortalitas larva yang terjadi setelah masa inkubasi digunakan sebagai parameter utama untuk menggambarkan aktivitas toksik ekstrak serta menjadi dasar dalam penentuan nilai LC50. Metode ini banyak digunakan dalam penelitian bahan alam karena mampu memberikan informasi awal mengenai tingkat keamanan dan potensi bioaktivitas suatu ekstrak secara cepat, sederhana, dan ekonomis. Hasil pengamatan mortalitas larva *Artemia salina* Leach setelah perlakuan ekstrak etanol 98% herba rumput teki pada berbagai konsentrasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach setelah Pemberian Ekstrak Etanol 98% Herba Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.)

Konsentrasi (ppm)	Larva Mati (ekor)	Larva Hidup (ekor)	Kematian Kumulatif	Hidup Kumulatif	Persentase Kematian (%)
0	0	10	0	43	0,00
10	0	10	0	33	0,00
100	1	9	1	23	4,16
500	6	4	7	14	33,33
1000	2	8	9	10	47,36
5000	8	2	17	2	89,47
10.000	10	0	27	0	100,00

Sumber: Data primer diolah (2026)

Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa mortalitas larva *Artemia salina* Leach meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol 98% herba rumput teki yang diberikan. Pada kelompok kontrol (0 ppm) dan konsentrasi 10 ppm tidak ditemukan kematian larva selama periode pengamatan sehingga persentase kematian yang diperoleh sebesar 0%. Tidak adanya kematian pada kedua kelompok tersebut menunjukkan bahwa media pengujian, kualitas air laut buatan, suhu lingkungan, serta kondisi larva selama pengujian masih berada pada kondisi yang baik dan tidak memberikan pengaruh negatif terhadap kelangsungan hidup organisme uji. Selain itu, hasil tersebut juga menunjukkan bahwa pada konsentrasi sangat rendah ekstrak belum mampu menimbulkan efek toksik yang signifikan terhadap larva *Artemia salina* Leach. Kematian larva mulai ditemukan pada konsentrasi 100 ppm dengan persentase mortalitas sebesar 4,16%. Persentase kematian yang masih rendah menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak mulai berinteraksi dengan sistem biologis larva, namun konsentrasinya belum cukup untuk menimbulkan efek toksik yang besar. Pada tahap ini sebagian besar larva masih mampu mempertahankan fungsi fisiologisnya sehingga tingkat kelangsungan hidup tetap tinggi. Meskipun demikian, munculnya kematian pada konsentrasi 100 ppm menjadi indikasi awal bahwa ekstrak etanol 98% herba rumput teki memiliki aktivitas biologis terhadap organisme uji.

Peningkatan mortalitas yang lebih nyata terlihat pada konsentrasi 500 ppm dengan persentase kematian sebesar 33,33%. Dibandingkan dengan konsentrasi 100 ppm, peningkatan ini menunjukkan bahwa jumlah senyawa aktif yang terpapar kepada larva semakin besar sehingga kemampuan ekstrak dalam mengganggu sistem fisiologis organisme juga meningkat. Kematian yang mencapai lebih dari sepertiga populasi larva mengindikasikan bahwa konsentrasi 500 ppm telah memasuki rentang konsentrasi yang mampu memberikan efek toksik yang cukup kuat. Kondisi ini menunjukkan adanya hubungan yang jelas antara peningkatan konsentrasi ekstrak dan peningkatan mortalitas larva.

Pada konsentrasi 1000 ppm diperoleh persentase kematian sebesar 47,36%. Nilai ini menunjukkan bahwa hampir setengah populasi larva mengalami kematian setelah terpapar ekstrak. Persentase mortalitas yang mendekati 50% memiliki arti penting dalam pengujian toksisitas karena berada di sekitar titik penentuan nilai LC50. Pada konsentrasi ini dapat diasumsikan bahwa jumlah senyawa aktif yang masuk ke dalam tubuh larva telah mencapai tingkat yang cukup untuk mengganggu berbagai proses metabolisme penting yang mendukung kelangsungan hidup organisme. Peningkatan mortalitas yang sangat tajam terjadi pada konsentrasi 5000 ppm. Pada konsentrasi ini diperoleh persentase kematian sebesar 89,47%, yang menunjukkan bahwa hampir seluruh larva tidak mampu bertahan hidup setelah perlakuan ekstrak. Tingginya mortalitas yang terjadi mengindikasikan bahwa konsentrasi ekstrak yang semakin besar menyebabkan peningkatan akumulasi senyawa aktif dalam tubuh larva sehingga efek toksik yang ditimbulkan menjadi lebih kuat. Kondisi tersebut memperlihatkan bahwa sebagian besar larva telah mengalami gangguan fisiologis yang berat sehingga tidak mampu mempertahankan fungsi kehidupannya.

Pada konsentrasi tertinggi yaitu 10.000 ppm diperoleh persentase kematian sebesar 100%, yang berarti seluruh larva *Artemia salina* Leach mengalami kematian setelah masa inkubasi berakhir. Mortalitas total yang terjadi pada konsentrasi ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 98% herba rumput teki memiliki efek toksik yang sangat kuat apabila diberikan dalam jumlah yang tinggi. Hasil ini sekaligus memperlihatkan bahwa seluruh sistem pertahanan biologis larva tidak lagi mampu mengimbangi paparan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak sehingga seluruh organisme uji mengalami kematian. Pola mortalitas yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan adanya hubungan dosis-respons (*dose-response relationship*) yang sangat jelas.

Hubungan dosis-respons merupakan karakteristik utama dalam pengujian toksisitas, yaitu semakin tinggi dosis atau konsentrasi suatu bahan yang diberikan, maka semakin besar pula respons biologis yang dihasilkan. Dalam penelitian ini, peningkatan konsentrasi ekstrak dari 0 ppm hingga 10.000 ppm secara konsisten diikuti oleh peningkatan persentase kematian larva. Pola tersebut menunjukkan bahwa efek biologis yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 98% herba rumput teki bersifat konsentrasi-dependent atau bergantung pada besarnya konsentrasi yang diberikan.

Aktivitas toksik yang ditunjukkan oleh ekstrak diduga berkaitan dengan keberadaan berbagai metabolit sekunder yang terkandung dalam herba rumput teki, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, dan senyawa fenolik lainnya. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki kemampuan untuk mengganggu proses metabolisme sel, merusak permeabilitas membran, menghambat kerja enzim, serta memengaruhi keseimbangan ion dalam tubuh organisme. Gangguan terhadap berbagai proses fisiologis tersebut pada akhirnya dapat menyebabkan penurunan aktivitas larva, kehilangan kemampuan adaptasi terhadap lingkungan, hingga berujung pada kematian. Secara keseluruhan, hasil pengamatan mortalitas larva *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa ekstrak etanol 98% herba rumput teki memiliki aktivitas toksik yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Adanya peningkatan mortalitas yang konsisten dari konsentrasi terendah hingga tertinggi menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa bioaktif yang mampu memberikan respons biologis terhadap organisme uji. Hasil ini menjadi dasar penting untuk analisis lebih lanjut mengenai penentuan nilai LC50 menggunakan metode Reed-Muench dan analisis probit yang akan dibahas pada subbab berikutnya.

Penentuan Nilai LC50 Ekstrak Etanol 98% Herba Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.) Menggunakan Metode Reed-Muench dan Probit

Setelah diperoleh data mortalitas larva *Artemia salina* Leach pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol 98% herba rumput teki, tahap selanjutnya adalah menentukan nilai Lethal Concentration 50 (LC50). Nilai LC50 merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan konsentrasi suatu bahan yang mampu menyebabkan kematian 50% populasi organisme uji dalam kondisi tertentu. Dalam penelitian toksikologi, nilai LC50 sering digunakan sebagai indikator tingkat toksisitas suatu bahan karena dapat menggambarkan besarnya konsentrasi yang diperlukan untuk menghasilkan efek biologis berupa kematian pada setengah populasi organisme yang diuji.

Penentuan nilai LC50 dalam penelitian ini dilakukan menggunakan dua pendekatan, yaitu metode Reed-Muench dan analisis probit. Metode Reed-Muench digunakan untuk memperoleh estimasi awal nilai LC50 berdasarkan distribusi mortalitas kumulatif, sedangkan analisis probit digunakan untuk menghasilkan estimasi yang lebih akurat melalui pendekatan statistik menggunakan hubungan antara logaritma konsentrasi dan respons kematian larva. Data kumulatif mortalitas yang digunakan dalam perhitungan Reed-Muench disajikan pada Tabel 2.

Tabel 3. Data Kumulatif Mortalitas Larva *Artemia salina* Leach Berdasarkan Metode Reed-Muench

Konsentrasi (ppm)	Mati	Hidup	Kumulatif Mati	Kumulatif Hidup	Total	Persentase Kematian (%)
0	0	10	0	43	43	0,00
10	0	10	0	33	33	0,00
100	1	9	1	23	24	4,16
500	6	4	7	14	21	33,33
1000	2	8	9	10	19	47,36

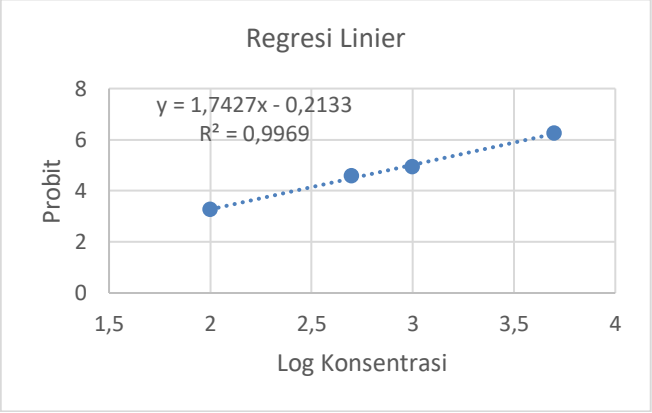
5000	8	2	17	2	19	89,47
10.000	10	0	27	0	27	100,00

Sumber: Data primer diolah (2026)

Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa nilai mortalitas yang paling mendekati 50% berada pada konsentrasi 1000 ppm dengan persentase kematian sebesar 47,36%, sedangkan pada konsentrasi 5000 ppm mortalitas meningkat menjadi 89,47%. Hal ini menunjukkan bahwa nilai LC50 berada pada rentang konsentrasi antara 1000 ppm dan 5000 ppm. Oleh karena itu, diperlukan analisis lanjutan menggunakan metode probit untuk memperoleh estimasi nilai LC50 yang lebih akurat. Analisis probit dilakukan dengan mengubah persentase kematian larva menjadi nilai probit dan mengubah konsentrasi ekstrak menjadi logaritma konsentrasi. Data hasil transformasi tersebut disajikan pada table berikut :

Tabel 4. Transformasi Data Mortalitas Larva Menggunakan Analisis Probit

Konsentrasi (ppm)	Persentase Kematian (%)	Log Konsentrasi (X)	Probit (Y)
100	4,16	2,000	3,26
500	33,33	2,699	4,57
1000	47,36	3,000	4,93
5000	89,47	3,699	6,25



Gambar 1. Grafik Regresi Linier

Sumber: Data primer diolah (2026)

Berdasarkan hasil transformasi tersebut diperoleh jumlah ΣX sebesar 11,398, ΣY sebesar 19,01, ΣX^2 sebesar 33,967, dan ΣXY sebesar 56,77. Nilai-nilai tersebut kemudian digunakan untuk membentuk persamaan regresi linier antara log konsentrasi dan nilai probit. Hasil analisis menunjukkan adanya hubungan positif antara peningkatan konsentrasi ekstrak dan peningkatan nilai probit kematian larva. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin besar nilai probit yang dihasilkan. Hubungan ini menunjukkan bahwa respons biologis larva *Artemia salina* Leach terhadap ekstrak etanol 98% herba rumput teki mengikuti pola dosis-respons yang normal, sehingga analisis probit dapat digunakan untuk memperkirakan nilai LC50 secara valid.

Pada analisis probit, nilai LC50 ditentukan pada probit 5 yang merepresentasikan tingkat kematian sebesar 50% populasi organisme uji. Berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh, nilai log LC50 dihitung kemudian dikonversi kembali ke dalam bentuk konsentrasi aktual (ppm). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa nilai LC50 ekstrak etanol 98% herba rumput teki berada pada rentang konsentrasi yang mendekati konsentrasi 1000 ppm, yang sejalan dengan hasil

observasi mortalitas larva pada pengamatan langsung.Nilai LC50 yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol 98% herba rumput teki memiliki kemampuan untuk menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach pada konsentrasi tertentu. Temuan ini mengindikasikan bahwa ekstrak mengandung senyawa bioaktif yang mampu menghasilkan efek biologis terhadap organisme uji. Selain itu, keberadaan pola hubungan dosis-respons yang jelas memperkuat bahwa peningkatan mortalitas yang terjadi bukan disebabkan oleh faktor lingkungan atau kesalahan pengujian, melainkan merupakan respons langsung terhadap peningkatan konsentrasi ekstrak yang diberikan. Hasil penentuan nilai LC50 ini menjadi dasar penting untuk mengevaluasi tingkat toksisitas ekstrak etanol 98% herba rumput teki yang akan dibahas lebih lanjut pada subbab berikutnya. Selain sebagai parameter keamanan, nilai LC50 juga dapat digunakan sebagai indikator awal keberadaan senyawa bioaktif yang berpotensi memiliki aktivitas farmakologis sehingga layak untuk diteliti lebih lanjut.

Dari hasil regresi diperoleh persamaan y = 1,7427x – 0,2133 sehingga diperoleh nilai LC_{50} rumput teki adalah 980 ppm masuk kategori moderat toksik, diperolah pulau nilai R^2 0,996 yang menandakan bahwa adanya linieritas antara peningkatan konsentrasi dengan kematian larva.

Interpretasi Tingkat Toksisitas dan Potensi Bioaktivitas Ekstrak Etanol 98% Herba Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.)

Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode skrining awal yang banyak digunakan untuk mengevaluasi toksisitas bahan alam serta mengidentifikasi keberadaan senyawa bioaktif yang berpotensi dikembangkan dalam bidang farmasi. Pengujian ini didasarkan pada kemampuan suatu ekstrak dalam menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach pada konsentrasi tertentu. Dalam penelitian ini, ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) menunjukkan peningkatan mortalitas larva yang sejalan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak, sehingga menunjukkan adanya aktivitas biologis yang nyata terhadap organisme uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa mortalitas larva meningkat secara bertahap dari 0% pada konsentrasi 0 ppm dan 10 ppm menjadi 4,16% pada konsentrasi 100 ppm, 33,33% pada konsentrasi 500 ppm, 47,36% pada konsentrasi 1000 ppm, 89,47% pada konsentrasi 5000 ppm, dan mencapai 100% pada konsentrasi 10.000 ppm. Pola tersebut memperlihatkan hubungan dosis-respons (*dose-response relationship*) yang jelas, di mana peningkatan konsentrasi ekstrak diikuti oleh peningkatan tingkat kematian larva. Hubungan ini menunjukkan bahwa efek toksik yang diamati merupakan respons biologis akibat paparan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak rumput teki. Temuan ini sejalan dengan penelitian Nguta et al. (2011) yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tanaman akan meningkatkan mortalitas larva *Artemia salina* karena semakin banyak senyawa aktif yang berinteraksi dengan sistem fisiologis organisme uji. Pola mortalitas yang diperoleh dalam penelitian ini juga menunjukkan kesamaan dengan penelitian Surya et al. (2022) pada ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) serta penelitian Sari et al. (2024) pada ekstrak etanol daun cincau hijau (*Cyclea barbata* Miers). Kedua penelitian tersebut melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak menyebabkan peningkatan persentase kematian larva secara signifikan. Fenomena ini menunjukkan bahwa metode BSLT mampu memberikan gambaran yang konsisten mengenai aktivitas biologis suatu ekstrak dan menjadi indikator yang sensitif dalam mendeteksi adanya senyawa yang berpotensi toksik.

Aktivitas toksik yang ditunjukkan oleh ekstrak etanol 98% herba rumput teki diduga berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman tersebut. Secara fitokimia, *Cyperus rotundus* diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid,

alkaloid, tanin, saponin, fenol, serta terpenoid. Keberadaan metabolit sekunder tersebut berpotensi memengaruhi sistem fisiologis larva melalui berbagai mekanisme, seperti gangguan permeabilitas membran sel, hambatan aktivitas enzim, gangguan respirasi seluler, serta ketidakseimbangan metabolisme energi. Ketika larva terpapar senyawa tersebut dalam konsentrasi tinggi, kemampuan organisme untuk mempertahankan fungsi biologis normal akan menurun sehingga meningkatkan risiko kematian. Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa yang sering dikaitkan dengan aktivitas sitotoksik dan antioksidan. Senyawa ini mampu memengaruhi integritas membran sel dan menghambat berbagai jalur metabolisme penting dalam tubuh organisme. Selain itu, alkaloid diketahui memiliki kemampuan untuk mengganggu sistem saraf dan proses fisiologis tertentu melalui interaksi dengan protein dan enzim dalam sel. Tanin dapat membentuk kompleks dengan protein sehingga menghambat aktivitas enzimatik yang diperlukan dalam proses metabolisme. Sementara itu, saponin memiliki sifat surfaktan yang mampu meningkatkan permeabilitas membran sel dan menyebabkan kerusakan struktur seluler. Kombinasi berbagai metabolit sekunder tersebut diduga berkontribusi terhadap aktivitas toksik ekstrak etanol 98% herba rumput teki yang diamati pada penelitian ini.

Penelitian yang dilakukan oleh Zuraida (2018) menunjukkan bahwa berbagai ekstrak tumbuhan hutan yang memiliki aktivitas toksik terhadap larva *Artemia salina* umumnya mengandung senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid dalam jumlah yang cukup tinggi. Temuan tersebut mendukung hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa aktivitas toksik ekstrak rumput teki kemungkinan besar dipengaruhi oleh keberadaan metabolit sekunder yang bersifat bioaktif. Dengan demikian, mortalitas larva yang diamati tidak hanya mencerminkan tingkat toksisitas ekstrak, tetapi juga menjadi indikator adanya senyawa aktif yang memiliki potensi farmakologis. Nilai LC50 yang diperoleh dalam penelitian ini menjadi parameter penting dalam menentukan tingkat toksisitas ekstrak. Menurut Wijaya et al. (2025), semakin kecil nilai LC50 suatu ekstrak maka semakin tinggi tingkat toksisitas yang dimilikinya. Dalam metode BSLT, nilai LC50 sering digunakan sebagai dasar untuk mengklasifikasikan tingkat aktivitas biologis suatu bahan alam. Ekstrak yang memiliki nilai LC50 rendah umumnya dianggap memiliki aktivitas biologis yang kuat karena mampu menyebabkan kematian organisme uji pada konsentrasi yang relatif kecil. Oleh karena itu, hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 98% herba rumput teki memiliki aktivitas biologis yang cukup nyata terhadap larva *Artemia salina* Leach.

Temuan penelitian ini juga sejalan dengan hasil penelitian Nerdy et al. (2021) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau dan daun sirih merah menunjukkan aktivitas toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach berdasarkan nilai LC50 yang diperoleh. Penelitian tersebut menegaskan bahwa metode BSLT tidak hanya berfungsi sebagai alat evaluasi keamanan, tetapi juga dapat digunakan sebagai metode penapisan awal dalam pencarian senyawa bioaktif yang berpotensi memiliki aktivitas farmakologis. Aktivitas toksik yang terdeteksi pada metode BSLT sering kali berkorelasi dengan aktivitas sitotoksik, antimikroba, antioksidan, maupun aktivitas biologis lainnya. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini juga didukung oleh penelitian Prasticha dan Surahmaida (2024) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *Selaginella doederleineii* menunjukkan peningkatan mortalitas larva seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak. Kesamaan pola mortalitas tersebut menunjukkan bahwa respons kematian larva merupakan parameter yang efektif untuk mengevaluasi keberadaan senyawa bioaktif dalam berbagai jenis tanaman. Dengan demikian, metode BSLT tetap relevan digunakan sebagai tahap

awal dalam eksplorasi bahan alam yang berpotensi dikembangkan sebagai sumber senyawa terapeutik.

Meskipun demikian, hasil pengujian BSLT tidak dapat digunakan secara langsung untuk menyimpulkan keamanan penggunaan ekstrak pada manusia. Pengujian ini hanya memberikan gambaran awal mengenai tingkat toksisitas dan aktivitas biologis suatu ekstrak. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan berupa identifikasi senyawa aktif, pengujian sitotoksisitas pada kultur sel, pengujian toksisitas akut dan subkronis pada hewan percobaan, serta evaluasi aktivitas farmakologis yang lebih spesifik. Langkah tersebut diperlukan untuk memperoleh informasi yang lebih komprehensif mengenai keamanan dan potensi terapeutik ekstrak etanol 98% herba rumput teki. Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) memiliki aktivitas toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach yang ditunjukkan oleh peningkatan mortalitas seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak. Aktivitas tersebut diduga berasal dari kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid yang terdapat dalam tanaman. Temuan ini menunjukkan bahwa rumput teki tidak hanya berpotensi sebagai tanaman obat tradisional, tetapi juga memiliki prospek sebagai sumber senyawa bioaktif yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam penelitian farmasi dan pengembangan obat berbasis bahan alam.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian toksisitas menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT), ekstrak etanol 98% herba rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) menunjukkan aktivitas toksik terhadap larva *Artemia salina* Leach yang ditandai dengan meningkatnya persentase mortalitas seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Mortalitas larva meningkat secara bertahap dari 0% pada konsentrasi 0 ppm dan 10 ppm hingga mencapai 100% pada konsentrasi 10.000 ppm. Pola tersebut menunjukkan adanya hubungan dosis-respons yang jelas, di mana semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin besar tingkat kematian larva yang dihasilkan. Analisis menggunakan metode Reed-Muench dan probit menunjukkan bahwa ekstrak etanol 98% herba rumput teki memiliki nilai LC50 yang berada pada konsentrasi 980 ppm yang dalam hal ini masuk kategori moderat atau toksik sedang. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas toksik yang diamati. Dengan demikian, ekstrak etanol 98% herba rumput teki berpotensi menjadi sumber senyawa bioaktif yang layak untuk diteliti lebih lanjut melalui pengujian fitokimia, sitotoksisitas, dan aktivitas farmakologis lainnya guna mendukung pengembangan bahan alam di bidang farmasi.

DAFTAR PUSTAKA

Banti, C. N., & Hadjikakou, S. K. (2021). Evaluation of toxicity with brine shrimp assay. MethodsX, 8, 101198. https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101198

Carballo, J. L., Hernández-Inda, Z. L., Pérez, P., & García-Grávalos, M. D. (2002). A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. BMC Biotechnology, 2(17), 1–10. https://doi.org/10.1186/1472-6750-2-17

Hamidi, M. R., Jovanova, B., & Kadifkova Panovska, T. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (Artemia salina L.) model. Macedonian Pharmaceutical Bulletin, 60(1), 9–18.

Handayani, V., Najib, A., & Sari, R. P. (2022). Uji toksisitas ekstrak etanol batang kayu wole woe terhadap larva Artemia salina Leach dengan metode BSLT. Jurnal As-Syifaa, 14(2), 125–133.

Haryanto, Haryanto, et al. Toksikologi Dasar. Edited by Jafriati, Jafriati, and Parawansah Parawansah, Eureka Media Aksara, 2023

Mastura, M., Rahmi, R., & Fakhrurrazi, F. (2022). Toxicity test of Acehnese plants using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. EduChemia, 7(1), 1–13.

Nerdy, N., Suryanto, D., Tanjung, M., & Harahap, U. (2021). Brine shrimp (Artemia salina Leach.) lethality test of green betel leaves and red betel leaves ethanolic extracts. Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences, 9(A), 131–136. https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.6171

Nguta, J. M., Mbaria, J. M., Gakuya, D. W., Gathumbi, P. K., Kabasa, J. D., & Kiama, S. G. (2011). Evaluation of acute toxicity of crude plant extracts from Kenyan biodiversity using Brine Shrimp (Artemia salina L.). PLoS ONE, 6(2), e14679. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014679

Prasticha, Y. D., & Surahmaida. (2024). Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) of 96% ethanol extract of Selaginella doederleineii leaves. Biospecies, 17(2), 1–6.

Sari, D. R. A. P., et al. (2024). Uji toksisitas ekstrak etanol 96% daun cincau hijau (Cyclea barbata Miers) menggunakan metode BSLT. Jurnal Pharmactive, 3(1), 35–43.

Surya, A., Irawan, M. P., Yolanda, & Zaiyar. (2022). Uji toksisitas ekstrak etanol daun kemangi (Ocimum sanctum Linn.) terhadap larva Artemia salina Leach dengan metode BSLT. JEDCHEM (Journal Education and Chemistry), 4(2), 113–120.

Wijaya, H. M., Palupi, D. A., & Zumalia, S. (2025). In vitro acute toxicity with LC50 value and phytochemical identification using Brine Shrimp Lethality Test method. Proceeding Cendekia International Conference Health and Technology, 3, 378–385.

Zuraida. (2018). Analisis toksisitas beberapa tumbuhan hutan dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Jurnal Penelitian Hasil Hutan, 36(3), 239–246. https://doi.org/10.20886/jphh.2018.36.3.239-246