

**UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL BUAH PATOLA
(*Luffa acutangula* (L.) Roxb.) TERHADAP LARVA UDANG
(*Artemia salina* Leach) DENGAN METODE
BRINE SHRIMP LETHALITY TEST**

Theo M da Cunha, I Gusti Budiana, Maria Molorung

Program Studi Kimia FST Undana

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai uji toksisitas ekstrak etanol buah patola (*Luffa acutangula* L. Roxb) larva udang (*Artemia salina* Leach). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol buah patola serta mengetahui nilai LC_{50} dari ekstrak etanol buah patola terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Penelitian diawali dengan preparasi sampel dan ekstraksi dengan teknik maserasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana dan etanol. Ekstrak kemudian dipekatkan menggunakan *rotaryevaporator*. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid. Proses pengujian toksisitas dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi ekstrak pada konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1000 ppm. Hasil uji toksisitas menunjukkan ekstrak etanol memiliki toksisitas dengan nilai LC_{50} 901,50 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah patola (*Luffa acutangula* L. Roxb) bersifat toksik dikarenakan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm dan berpotensi sebagai obat

Kata kunci : Ekstrak Etanol Buah Patola, *Artemia salina* Leach , Uji Toksisitas, Uji Fitokimia, LC_{50} , Senyawa Metabolit Sekunder

Salah satu jenis tanaman obat yang dikenal oleh masyarakat yaitu tanaman patola (*Luffa acutangula* L. Roxb) yang merupakan salah satu spesies dari famili *cucurbitaceae*. Tanaman patola (*Luffa acutangula* L. Roxb) berasal dari India namun telah beradaptasi dengan baik di Asia Tenggara termasuk Indonesia. Tanaman patola (*Luffa acutangula* L. Roxb) adalah tanaman buah berbentuk bulat panjang dengan ukuran 15-30 cm, dan semakin mengecil ke pangkalnya. Bentuk buahnya menyerupai belimbing dengan siku-siku yang memanjang. Kulitnya keras seperti kaktus dengan daging yang lunak dan halus (Riski, 2013).

Tanaman patola (*Luffa acutangula* L. Roxb) menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat toksik dan dapat digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit antara lain sebagai antioksidan, antidiabetes, hepatoprotektif, antiproliferasi, antikataleptik, antidiabetes, antimikroba, analgesik selain itu dapat sebagai antineoplastik dan juga masalah penyakit pada usus, pembesaran limfa, penyakit kuning dan pencahar. Khasiat-khasiat tersebut terutama terkandung pada bagian daun, buah, akar, biji, dan batang (Jyulianti dkk, 2015)

Berdasarkan penelitian para ahli sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak metanol buah patola (*Luffa acutangula* L. Roxb) mengandung senyawa kimia alkaloid, fenolik, saponin, tanin dan flavonoid (Mustarichie dkk, 2012). Berdasarkan beberapa penelitian lain juga menyebutkan bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada buah patola adalah golongan flavonoid, golongan alkaloid, golongan terpenoid (saponin dan karotenoid), senyawa 3,5-Dihidroksi-6-metil-2,3-dihidropiran-4-one dan kolesterol (Astuti, 2005).

Buah patola juga mengandung p rotein chitotetrose spesifik lectin (Anantharamet *et al.*, 1985) dan biji buah patola mengandung protein luffaculin, curcubitacin B dan asam oleanolat saponin (Astuti, 2005).

Untuk keamanan pemanfaatan buah patola maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas buah patola. Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai bioindikatornya. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode skrining untuk menentukan ketoksikan suatu ekstrak atau senyawa. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah suatu metode uji yang bersifat umum yang mampu mendeteksi spektrum bioaktivitas secara luas pada ekstrak kasar tanaman. Metode ini dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan akan uji hayati yang bersifat cepat, sederhana, tidak memerlukan banyak bahan, biayanya murah dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan (Loomis,1997; Areq Maria, 2012)

MATERI DAN METODE

Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

Serbuk bauhpatola (*Luffaacutangula* (L) Roxb) ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut n-heksana sebanyak 2000 mL sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana dan ampas. Ampas yang diperoleh dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian ampasnya diekstraksi secara maserasi dengan etanol sebanyak 2000 mL. Ekstrak etanol yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Kemudian ekstrak etanol tersebut akan digunakan untuk analisis selanjutnya.

Uji Fitokimia

- a. Uji Terpenoid
Sebanyak 2 mL sampel ditambahkan pereaksi Lieberman Burchard (1 mL asam sulfat pekat ditambah 19 mL asam asetat anhidrat dingin). Terpenoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah kecoklatan atau ungu
- b. Uji Flavonoid
Sebanyak 2 mL sampel ditambahkan pereaksi Shibata (2 mL amilalkohol kemudian ditambahkan sedikit logam magnesium dan ditambahkan 1 mL HCl pekat). Flavonoid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah atau jingga.
- c. Uji Alkaloid
Sebanyak 2 mL sampel diuji dengan 2 pereaksi yaitu pereaksi Mayer (1,3 g HgCl₂ dalam 60 ml air ditambah 5 g KI dalam 10 ml air kemudian diencerkan sampai 100 ml) dan pereaksi Wagner (2 g KI dilarutkan dalam air kemudian ditambahkan 1,27 g I₂ kemudian diencerkan sampai 100 ml) Alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih kekuningan (Mayer) dan endapan coklat (Wagner).
- d. Uji Steroid
Sebanyak 2 ml sampel ditambahkan 1 ml kloroform dan 1 ml H₂SO₄. Steroid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hijau biru.
- e. Uji Saponin
Sebanyak 2 ml sampel ditambahkan aquades 2 ml kemudian dikocok. Busa yang stabil menunjukkan adanya saponin.

Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode BSLT.

Ekstrak etanol buah patola (*Luffa acutangula* (L) Roxb) di buat dalam beberapa konsentrasi (200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1000 ppm)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Buah patola dikeringkan dibawah sinar matahari atau diangin-anginkan selama 14 hari. Proses pengeringan sampel ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam sampel sehingga dapat menghindari terurainya kandungan zat aktif karena pengaruh enzim dan mencegah kerusakan bahan akibat aktivitas biogas (mikroba/jamur), dan pengeringan juga dapat mempermudah proses penghalusan sampel serta dapat memungkinkan sampel dapat disimpan untuk waktu yang lebih lama.

Buah patola yang telah dikeringkan selanjutnya dihaluskan menggunakan blender lalu diayak dengan ayakan elektrik 60 mesh untuk mendapatkan bubuk atau serbuk buah patola. Penghalusan sampel bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi metabolit sekunder yang akan dilakukan, dimana semakin luas permukaan bidang kontak sampel yang berinteraksi dengan pelarut maka semakin optimal pula proses ekstraksi metabolit sekunder yang terjadi dari dalam sampel. Sedangkan proses pengayakan dilakukan guna memperoleh ukuran sampel yang sama atau seragam sehingga proses ekstraksi dapat terjadi secara sempurna pada seluruh sampel. Serbuk akar tapak dara yang diperoleh setelah dihaluskan adalah sebanyak 500 gram.

Maserasi

Ekstrak etanol buah patola diperoleh dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi.

Proses ekstraksi dilakukan secara bertahap dengan menggunakan dua pelarut yang sifat kepolarannya berbeda yaitu n-heksana yang bersifat nonpolar dan etanol yang bersifat polar.

Pada proses maserasi, awalnya sampel dimaserasi dengan pelarut n-heksan yang bersifat nonpolar sebanyak 2000 mL. Pelarut ini akan menarik keluar senyawa-senyawa nonpolar dan pengotor yang ada pada sampel. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila dibantu dengan pengocokan agar proses ekstraksi semakin sempurna karena semakin sering terjadinya interaksi antara sampel dengan pelarut. Selama perendaman, terjadi pemecahan dinding sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam n-heksan. Proses ini berlangsung selama 6 hari. Semakin lama waktu ekstraksi, maka kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya bertambah sampai titik jenuh larutan.

Uji Fitokimia

Tabel 1. Data hasil uji fitokimia Ekstrak Etanol Buah Patola (*Iuffa acutangula* (L) Roxb)

No	Senyawa Metabolit Sekunder yang diuji	Pereaksi yang digunakan	Perubahan pada tinjauan pustaka	Perubahan yang diamati	Keterangan (+)(-)
1	Alkaloid	Mayer	Endapan putih kekuningan	Ada endapan putih kekuningan	(-)
		Wagner	Endapan coklat	Ada endapan coklat	(+)
2	Terpenoid	Liebermann Buchard	Cincin berwarna merah kecoklatan atau ungu	Tidak ada endapan, coklat tua	(-)
3	Steroid	Liebermann Buchard	Hijau-Biru	Coklat tua	(-)
4	Flavonoid	Shibata	Merah atau jingga	Merah	(+)
5	Saponin	Aguades	Ada busa	Ada busa	(+)

Keterangan: simbol (+) yang berarti terdeteksi oleh pereaksi warna dan (-) yang berarti tidak terdeteksi oleh pereaksi warna.

Selanjutnya adalah maserasi tahap kedua menggunakan pelarut etanol yang bersifat polar untuk melarutkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar serta mampu menghambat kerja enzim sehingga dapat terhindar dari proses hidrolisis dan oksidasi (Harbone, 1987). Proses ini juga berlangsung selama 6 hari. Setelah maserasi, larutan disaring menggunakan kertas saring biasa untuk memisahkan ampas dan ekstrak etanolnya. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary vacum evaporator* pada suhu 40°C. Suhu diatur tidak terlalu tinggi bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa aktif pada sampel (Fatmawati, 2015). Hasil evaporasi ekstrak didapatkan ekstrak etanol kental buah patola dengan warna Hijau pekat.

Hasil ini didukung oleh pendapat Harbone (1987) yang menyatakan bahwa filtrat yang diperoleh dari proses maserasi ketika diuapkan dengan alat penguap putar vakum (*rotary vacum evaporator*) pada tekanan rendah menghasilkan ekstrak kental.

Uji Toksisitas

Perlakuan uji toksisitas dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada ekstrak etanol buah patola. Sampel diuji untuk membandingkan aktivitasnya. Untuk pengujian toksisitas, sampel dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, 1000 ppm dan 0 ppm sebagai larutan kontrol. Penggunaan berbagai macam konsentrasi bertujuan untuk mencari nilai LC_{50} yang relatif tepat. Masing-masing konsentrasi digunakan 10 ekor larva udang.

Larutan uji dari setiap sampel terlebih dahulu dibuat larutan induk sebesar 2000 ppm dengan melarutkan 0.2 gram sampel uji kedalam 100 mL aquades. Larutan induk 2000 ppm kemudian diencerkan untuk membuat variasi konsentrasi dan dimasukkan kedalam botol vial. Masing-masing konsentrasi diupayakan pelarutnya agar kematian larva udang tidak dipengaruhi oleh pelarutnya. Setelah pelarutnya menguap, disiapkan tempat untuk pengujian toksisitas. Tempat yang digunakan untuk pengujian toksisitas yaitu gelas aqua yang telah dibersihkan dan diberi label sesuai dengan konsentrasi masing-masing sampel uji. Tujuan penggunaan gelas aqua sebagai tempat uji ialah karena mudah untuk memasukkan larva udang dan menghitung jumlah larva udang yang mati.

Kedalam wadah uji, dimasukkan sebanyak 2 mL larutan uji dari setiap konsentrasi, kemudian ditambahkan 8 mL air laut sehingga di dalam wadah uji berisi 10 mL larutan.

Pelarutan ekstrak dengan air laut sering menimbulkan masalah karena adanya perbedaan tingkat kepolaran sehingga perlu ditambahkan Dimetilsulfoksida (DMSO) untuk membantu kelarutannya. DMSO digunakan sebagai surfaktan karena ekstrak tidak dapat larut dalam air laut. Surfaktan merupakan senyawa yang memiliki ujung hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat melarutkan senyawa nonpolar dan polar.

Pengamatan uji toksisitas dilakukan setelah 24 jam pemberian ekstrak terhadap kematian larva udang. Pengamatan dilakukan menggunakan kaca pembesar dengan melihat pergerakan dari larva. Jika tidak ada pergerakan dari larva udang, berarti larva tersebut mati. Larva udang yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi dihitung dan dicatat. Rata-rata kematian larva udang untuk masing-masing kelompok perlakuan diperoleh dengan menghitung total jumlah kematian setiap kelompok perlakuan sebanyak 3 kali dan membaginya dengan jumlah replikasi. Sedangkan persen kematian diperoleh dengan mengurangi rata-rata kematian larva pada masing-masing kelompok perlakuan dengan rata-rata kematian larva kontrol kemudian membaginya dengan jumlah larva yang diuji pada masing-masing konsentrasi dan dikalikan dengan 100%. Hasil pengamatan kematian larva udang *Artemia salina* Leach setelah 24 jam dari setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Buah Patola (*Luffa acutangula L.Roxb*). Terhadap Kematian Larva Udang *Artemia Salina* Leach

Sampel Uji	Konsentrasi (ppm)	Hasil Uji					
		Perlakuan			Total Kematian	Rata-rata Kematian	Persen Kematian (%)
		I	II	III			
Ekstrak Kental Etanol	0	0	0	0	0	0	
	200	1	1	2	4	1,33	
	400	2	3	2	7	2,33	
	600	2	3	5	10	3,33	
	800	3	5	5	13	4,33	
	1000	5	7	6	18	6	

Berdasarkan tabel diatas, larva yang digunakan untuk setiap konsentrasi dengan 3 kali pengulangan adalah 30 ekor. Jumlah total larva yang digunakan untuk percobaan ini adalah 180 ekor. Dari Tabel 2 menunjukkan bahwa berbagai konsentrasi setiap larutan uji memperlihatkan pengaruh yang berbeda terhadap kematian larva *Artemia salina* Leach. Pada tabel diatas dapat dilihat terdapat peningkatan kematian *Artemia salina* Leach yang selaras dengan peningkatan konsentrasi. Pada konsentrasi 0 ppm (larutan kontrol) tidak terdapat larva *Artemia salina* Leach yang mati, sehingga kematian larva udang murni dipengaruhi oleh ekstrak bukan dari faktor lainnya.

Setelah diperoleh persentase kematian larva *Artemia salina* Leach, selanjutnya dilakukan perhitungan nilai LC_{50} ekstrak buah patola (*Luffa acutangula L.Roxb*). LC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan dosis atau konsentrasi suatu ekstrak (ppm) yang diberikan selama 24 jam dan dapat mematikan 50% hewan coba.

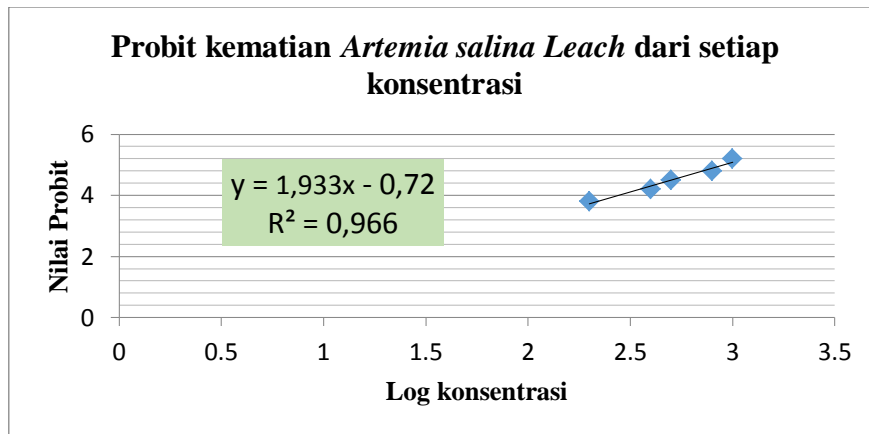
Nilai LC_{50} dapat ditentukan menggunakan analisis probit yaitu menggunakan perhitungan secara matematik (manual) dan aplikasi *Microsoft Office Excel* dengan membuat kurva. Dari data persentase kematian *Artemia salina* Leach dikonversikan ke nilai probit untuk menghitung harga LC_{50} .

Tabel 3. Hasil Uji Toksisitas Buah Patola (*Luffa acutangula L.Roxb*) Terhadap Kematian Larva Udang *Artemia Salina* Leach

Sampel Uji	LC_{50} (ppm)	Keterangan
Ekstrak Kental Etanol	901,50	Toksik

Untuk memastikan kebenaran perhitungan nilai LC_{50} secara manual, maka dilakukan perhitungan nilai LC_{50} menggunakan aplikasi *Microsoft Office*

Excel dengan membuat kurva hubungan antara log konsentrasi dan nilai probit. Kurva hubungan log konsentrasi dan nilai probit dapat dilihat pada grafik berikut :



Gambar 1. Probit kematian

Dari kurva menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara log konsentrasi dengan mortalitas larva udang, dimana semakin tinggi konsentrasi larutan yang digunakan jumlah kematian larva udang semakin meningkat. Hal ini digambarkan dalam kurva dengan semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi pula nilai probit. Berdasarkan kurva diatas didapatkan persamaan garis lurus untuk ekstrak etanol $y = 1,933x - 0,72$. Nilai koefisien determinasi (R^2) yang dihasilkan yaitu 0,966. Hal ini menunjukkan bahwa persentase nilai X yaitu konsentrasi setiap sampel buah patola terhadap variasi Y yaitu respon (jumlah kematian *Artemia salina Leach*) adalah 96,6 %.

Menurut Meyer *et al.*, (1982) suatu senyawa dikatakan bersifat toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm, sangat toksik jika < 30 ppm dan > 1000 ppm bersifat tidak toksik.

Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa nilai LC_{50} sampel uji termasuk dalam kategori yang bersifat toksik terhadap *Artemia salina Leach*. Semakin besar harga nilai LC_{50} berarti semakin kecil toksisitasnya dan sebaliknya semakin kecil harga nilai LC_{50} maka semakin besar toksisitasnya.

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa metabolit sekunder yang berhasil diidentifikasi dari ekstrak etanol buah patola (*Luffa acutangula* (L) Roxb) adalah senyawa alkaloid, flavonoid dan saponim.
2. Nilai LC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol buah patola (*Luffa acutangula* L.Roxb) adalah 901,50 ppm (toksik).

3. Ekstrak etanol buah patola (*Luffa acutangula* L.Roxb) memiliki potensi toksisitas terhadap kematian larva udang *Artemia salina* Leach karena nilai $LC_{50} < 1000$ ppm

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S. 1990. *Kimia Kayu*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Pendidikan Tinggi PAU. IPB. Bogor.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB. Bandung
- Anggarwulan, E., dan Solichatun. 2001. *Fisiologi Tumbuhan*. FMIPA, UNS. Surakarta.
- Anonim. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan. Jakarta.
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, diterjemahkan oleh Farida Ibrahim, Asmanizar, Iis Aisyah, Edisi keempat*. UI. Jakarta.
- Bernasconi, G., Gerster H., Hauser H., Stauble H., Schneiter E. 1995. *Teknologi Kimia Bagian 2, terjemahan Lienda Handojo*. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Burke, R.W., Diamondstone, B. I., Velapoidi, R. A., and Menis, O. 1974. *Mechanism of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reactions for Cholesterol*. CLIN CHEM
- Clark, J. D. A. 1985. *Pulp Technologist and Treatment for Paper, Second Edition*. Sanfransisco: Miller Freeman Publication inc.
- Dashora, N., Chauhan, L.S., dan Kumar, N. 2013. *Review Article: Luffa acutangula (Linn.) Roxb. Var. Amara (Roxb) A Consensus Review*. Journal of Pharma and Bio Sciences. 4(2).
- Davis, J.M. 1996. *Loofa gourds*. The Permaculture Activist. 34:45-47.
- Fengel, D. dan Wegener, G. 1995. *Kayu: Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-Reaksi*. Terjemahan Hardjono Sastrohamidjojo. UGM. Yogyakarta.
- Ghufran H., M., Kordi, 2010. *Budi Daya Perairan, Edisi Kedua*. Citra Aditya Bakti, Jakarta.
- Goldman A. 1949. *How Species Oleoresin Are Made*. The American Perfumes and Essential Oil. 53: 320-323.
- Gritter, R. J., Bobbit, J.M. dan Schwarting, A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Edisi II*. ITB. Bandung.
- Gunawan, D., Mulyani, S., 2004. *Ilmu Obat Alam*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan Kedua. ITB. Bandung.
- Hayati, E.K., Halimah, N., 2010. *Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against Artemia salina Leach of Anting-Anting (Acalypha indica Linn.) Plant Extract*. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*. 1 (2), 80–81.
- Herbert, R.B. 1996. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Alih Bahasa Bambang Srigandono. IKIP Semarang.
- Hostettmann K., M Hostettman, MD, Marston A. 1995. *Cara Kromatografi Preparative Penggunaan Pada Isolasi Senyawa Alam*. ITB. Bandung.
- Hamidi, M.R., Jovanova, B., Panovska, T.K., 2014. *Toxicological Evaluation of The Plant Products Using Brine Shrimp (Artemia salina L.) Model*. Macedonian Pharmaceutical Bulletin. 60 (1), 9–18.

Hasil Penelitian

- Harefa, 2003. Pembudidayaan Artemia Untuk Pakan Udang dan Ikan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Johnson, E.L., dan Stevenson, R. 1991. *Dasar Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. ITB. Bandung.
- Jyothi, V., Ambati, S., & Jyothi, A., 2010. *The Pharmacognostic, Phytochemical and Pharmacological Profile of Luffa Acutanglukosa*. International Journal of Pharmacy and Technology, 2, 4: 512-524
- Katno, Pramono S. 2009. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Obat Tawangmangu. Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta.
- Kholish, M. 2010. *Panduan Lengkap Agribisnis Patin*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Kristanti, A.N., Siti Aminah, N., Tanjung, M., Kurniadi, B., 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga. Surabaya.
- Lenny, S., 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida*. Univ. Sumatra Utara.
- Lingga, Lanny. 2010. *Cerdas Memilih Sayuran*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- List, P.H. dan Schmidt, P.C. 1989. *Phytopharmaceutical Technology*. CRS Press. Florida.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid (Terjemahan dari Technique of Flafonoid Identification)*. ITB. Bandung.
- Marliana, S.D., Suryanti, V., Suyono. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. Universitas Sebelas Maret 3(1).
- Meyer, B.N., Ferrighni, N.R., Put-nam, J.E., Jacobson, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent*. Planta Me-Dica 31–34.
- Mudjiman, A., 1989. *Udang Renik Air Asin (Artemia salina)*. Bhratara, Jakarta.
- Najib, Ahmad. 2006. *Ringkasan Materi Kuliah Fitokimia II* di <https://moko31.files.wordpress.com>. (Diakses 13 Mei 2019)
- Neldawati. 2013. *Analisis Nilai Absorbansi Dalam Penentuan Kadar Flavonoid Untuk Berbagai Jenis Tanaman Obat*. Skripsi. Jurusan Fisika. Universitas Negeri Padang.
- Octaviani, Y. 2009. *Isolasi dan Identifikasi Aglikon Saponin Kecambah Kacang Hijau (Phaseolus radiates L.)*. Skripsi. Jurusan Farmasi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Rahayu, S. 2009. *Pengaruh Perbandingan Berat Bahan dan Waktu Ekstraksi Terhadap Minyak Biji Pepaya Terambil*. *Journal Industri dan Informasi*. Vol 4. No 5. 147-151.
- Rizki, F. 2013. *The Miracle of Vegetables*. ArgoMedia. Jakarta
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Edisi VI, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata*. ITB. Bandung.
- Rubatzky V.E., Yamaguchi M. 1997. *Sayuran Dunia 2 Prinsip, Produksi, dan Gizi*. ITB. Bandung..
- Rusdi, 1990. *Tetumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.

- Sapitri, Wulan. 2016. Makalah Budidaya Sayuran Gambas di <https://makalahterlengkapku.blogspot.com/2016/03/makalah-budidaya-sayuran-gambas.html> (Diakses 22 Mei 2019)
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji fitokimia ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha Indica Linn*) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (*Artemia salina Leach*) (Skripsi). UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. ITB. Bandung.
- Thangapandi, V., Pushpanathan, T., 2014. Comparison of the *Artemia salina* and *Artemia franciscana* Bioassays for Toxicity of Indian Medicinal Plants. *Journal of Coastal Life Medicine*. 2 (6), 453–457.
- Wibowo, S., Sediadi, B., Dwi, T.H., Syamdidi. 2013. *Artemia Untuk Pakan Ikan dan Udang*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Wills, R.B.H., Wong, A.W.K., Scriven.F.M., Greenfield, H. 1984. *Nutrient composition of Chinese vegetables*. *J. Agric. Food Chem.* 32: 413-416.
- Yuhernita & Juniarti, Delvi O. 2011. *Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas Brine Shrimp Lethality Test dan Antioksidan (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dari Ekstrak Daun Saga (Abrus precatorius L.)*. Makalah Sains. Vol. 13 No. 1