



## Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Fraksi Etil Asetat dan Fraksi N-Heksan Daun Pegagan (*Centella Asiatica* L.)

Ella Yunita, Dyah Ratna Ayu Puspita Sari

Program Studi D3 Farmasi, Akademi Kesehatan Bintang Persada

### ABSTRAK

Antioksidan berperan penting untuk melindungi sel terhadap pengaruh radikal bebas. Tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan alami adalah pegagan (*Centella asiatica*) dan banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>) dari fraksi etil asetat dan n-heksan daun pegagan dan toksisitasnya (LC<sub>50</sub>) terhadap *Artemia salina* Leach. Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan uji

toksisitas dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil penelitian menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> fraksi etil asetat sebesar 325 mg/L (kategori lemah) dan fraksi n-heksan 731 mg/L (kategori tidak aktif) sedangkan nilai LC<sub>50</sub> pada fraksi etil asetat yaitu 1202 mg/L (kategori tidak toksik) dan fraksi n-heksan yaitu 2818 mg/L (kategori tidak toksik).

Kata Kunci : BSLT, *C. asiatica*, DPPH, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan

### ABSTRACT

Antioxidants play an important role in protecting cell against the effect of free radicals. The plant that act as a natural antioxidants is pegagan (*Centella asiatica*) and widely used in traditional medicine. This study aims to examine of antioxidant activity (IC<sub>50</sub>) of the ethyl acetate and n-hexane fraction of *C. asiatica* leaves and their toxicity (LC<sub>50</sub>) against *Artemia salina* Leach. The antioxidant activity test used the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method by a UV-Vis spectrophotometer and the toxicity test used the

BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) method. The results of the IC<sub>50</sub> value of ethyl acetate fraction was 325 mg/L (weak category) and n-hexane fraction 731 mg/L (inactive category) while the LC<sub>50</sub> value of ethyl acetate fraction was 1202 mg/L (non toxic category) and n-hexane fraction is 2818 mg/L (non-toxic category.)

Keywords: BSLT, *C. asiatica*, DPPH, ethyl acetate fraction, n-hexane fraction.

Penulis Korespondensi :  
Dyah Ratna Ayu Puspita Sari  
Program Studi D3 Farmasi, Akademi Kesehatan  
Bintang Persada  
E-mail : [ayupuspitadyah8@gmail.com](mailto:ayupuspitadyah8@gmail.com)

#### Informasi Artikel

*Submitted* : 17 Maret 2022  
*Accepted* : 18 Mei 2022  
*Published* : 30 Juni 2022

## PENDAHULUAN

Antioksidan berperan penting bagi kesehatan. Senyawa antioksidan dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi yang diakibatkan oleh senyawa radikal bebas. Radikal bebas dan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) yang berlebihan dapat menyerang molekul biologis seperti lipid, protein dan asam nukleat yang mengarah ke cedera jaringan (Phaniendra et al., 2015). Stres oksidatif juga terlibat dalam terjadinya penyakit aterosklerosis, kanker, diabetes, arthritis, cedera reperfusi, penuaan dini dan inflamasi. Antioksidan diperlukan untuk mencegah terjadinya kerusakan oksidatif oleh radikal bebas (M. Rahman et al., 2013).

Senyawa antioksidan alami dapat ditemui pada tanaman obat tradisional, yaitu pegagan (*Centella asiatica*). Pegagan merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan untuk mengobati beberapa penyakit seperti penyakit jantung, penyakit kulit, antiepilepsi, obat luka, ulser, dan asma. Kandungan kimia pegagan yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan terpenoid. Senyawa terpenoid yang terkandung dalam pegagan adalah glikosida triterpen seperti centella saponin, asiatikosida, madekasosida, dan sentelosida, serta asam asiatik dan asam madasiatik (Sutardi, 2017). Salamah & Farahana, (2014) membuktikan bahwa kandungan flavonoid pada ekstrak etanol daun pegagan dapat menghambat terbentuknya

reaksi oksidasi. Fraksi etil asetat herba pegagan juga menunjukkan adanya kandungan senyawa polifenol seperti flavonoid dan tannin. Ekstrak etanol herba pegagan juga terbukti sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 78,20 ppm (Yahya & Nurrosyidah, 2020). Aktivitas farmakologi pegagan ini disebabkan oleh adanya kandungan kimia yang terkandung didalamnya. Efektivitas kandungan kimia tersebut sebagai bahan obat dari alam dapat ditentukan melalui analisis awal yaitu uji toksisitas. Berdasarkan potensi yang dimiliki oleh pegagan maka, pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dan toksisitas menggunakan fraksi etil asetat dan n-heksan daun pegagan. Metode uji antioksidan yang digunakan adalah DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan metode uji toksisitas dengan metode BSLT. Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) adalah metode uji toksisitas yang sering digunakan. Metode BSLT dipilih karena cepat, sederhana, ekonomis dan hasilnya dapat diulang (R. Hamidi et al., 2014).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Spektrofotometri UV-VIS (Shimadzu UV-2600®), *Rotary evaporator* (Buchi®), corong pisah, tabung reaksi, alat-alat gelas, water bath (Memmert®), timbangan digital (Kenko®). Bahan yang digunakan adalah simplisia daun pegagan,

akuades, etanol 96%, etil asetat, n-heksan, Tween 80, DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl), Vitamin C, etanol p.a.

### **Prosedur Penelitian**

#### **1. Pengumpulan dan Preparasi Sampel**

Sampel daun pegagan diperoleh dari daerah Tabanan, Bali yang telah dilakukan determinasi sebelumnya oleh Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “Eka Karya” Bali (LIPI). Daun pegagan disortasi basah, kemudian dicuci menggunakan air mengalir. Selanjutnya daun ditiriskan, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 7 hari. Daun yang telah kering dibuat serbuk dengan blender

#### **2. Ekstraksi Sampel dan Fraksinasi**

Ekstraksi serbuk simplisia daun pegagan dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 200 g serbuk simplisia direndam dalam 2 L etanol 96%. Proses maserasi berlangsung selama 3 hari dan dilakukan remaserasi selama 2 hari. Filtrat kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotavapor* pada suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu dilakukan partisi cair-cair terhadap ekstrak kental daun pegagan dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Ekstrak kental terlebih dahulu ditambahkan dengan akuades lalu dipisahkan dengan pelarut n-heksan menggunakan corong pisah. Setelah itu dilakukan penambahan pelarut etil asetat kedalam fase air, dan corong pisah digojog. Proses ini dilakukan hingga n-

heksan maupun etil asetat menjadi jernih agar dapat menyari komponen senyawa aktif yang dikehendaki secara maksimal. Kedua fraksi yang diperoleh diuapkan pelarutnya untuk memperoleh fraksi kental kemudian ditimbang beratnya (Nuari et al., 2017).

#### **3. Identifikasi Flavonoid**

Ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat, diuji kandungan flavonoidnya dengan menambahkan 0,3 g serbuk Mg, alkohol klorhidrat, dan 2 ml amil alkohol lalu dikocok kuat. Terbentuknya warna kuning, merah, atau jingga menandakan adanya flavonoid dalam sampel (Syafitri et al., 2014).

#### **4. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan penentuan IC<sub>50</sub>**

Sebanyak 0,04 mg DPPH dilarutkan dengan 100 mL etanol absolut untuk membuat larutan DPPH 0,1 mM. Kemudian dibuat larutan uji dengan cara menimbang fraksi n heksan dan etil asetat masing-masing sebanyak 0,1 g dan dilarutkan dengan etanol absolut sebanyak 5 mL. Larutan dihomogenkan dan disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit. Kemudian dibuat larutan uji dengan variasi konsentrasi sebesar 2,4,6,8,10 mg/L. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi larutan DPPH yang telah diinkubasi pada suhu 37°C diruang gelap, pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer *UV-Visible*. Dilakukan pengukuran absorbansi larutan sampel ekstrak etanol

96%, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dari berbagai konsentrasi yang telah ditambahkan dengan larutan DPPH pada panjang gelombang 517 nm. Baku pembanding yang digunakan pada penelitian ini adalah vitamin c yang diperlakukan sama dengan larutan sampel (Setiawan et al., 2018).

#### 5. Uji Toksisitas dan Penentuan LC<sub>50</sub>

Sebanyak 10 ekor larva udang *A.salina* dimasukkan ke dalam larutan uji yang memiliki variasi konsentrasi 1000, 500, 100, 50, dan 10 mg/L dan pada kontrol. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Pengamatan terhadap udang *A.salina* dilakukan setelah 24 jam. Nilai LC<sub>50</sub> ditentukan dengan metode analisis probit menggunakan Microsoft Excel (Muaja et al., 2013).

#### 6. Analisis Data

Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> menggunakan analisis regresi linear :  $y = a + bx$  dan

perhitungan nilai LC<sub>50</sub> menggunakan analisis probit dengan Microsoft Excel.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak kental daun pegagan yang diperoleh adalah sebesar 30,7 gram dengan rendemen sebesar 15,35%. Ekstrak berwarna coklat. Pengujian fitokimia yang dilakukan adalah uji kandungan flavonoid pada ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat daun pegagan sebagai uji pendahuluan untuk mengidentifikasi adanya kandungan flavonoid. Identifikasi flavonoid pada fraksi n-heksan dan etil asetat menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid (tabel 1). Flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-orange (Mojab et al., 2010). Warna merah-orange ini terbentuk karena flavonoid bereaksi dengan magnesium dan asam klorida pekat (Sangi et al., 2019).

Tabel 1. Hasil identifikasi flavonoid ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun pegagan

| No. | Sampel              | Hasil Identifikasi Flavonoid     | Keterangan        |
|-----|---------------------|----------------------------------|-------------------|
| 1   | Ekstrak Etanol 96 % | Terbentuk warna orange kemerahan | Positif Flavonoid |
| 2   | Fraksi n-heksan     | Terbentuk warna orange kemerahan | Positif Flavonoid |
| 3   | Fraksi etil asetat  | Terbentuk warna orange kemerahan | Positif Flavonoid |

Hasil pengujian antioksidan terhadap kedua fraksi menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> fraksi n-heksan sebesar 731 mg/L dan fraksi etil asetat sebesar 325 mg/L (Tabel II). Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat radikal bebas sebesar 50%. Semakin kecil nilai

IC<sub>50</sub> maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya (N. Rahman et al., 2014). Senyawa antioksidan akan mendonasikan atom hidrogen terhadap radikal DPPH sehingga terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Salazar-Aranda et al., 2011). Kandungan flavonoid

pada fraksi n-heksan dan etil asetat inilah yang berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Flavonoid merupakan komponen kimia yang dikenal sebagai antioksidan pada berbagai tanaman termasuk pada pegagan (Ghasemzadeh & Jaafar, 2011). Efek perlindungan flavonoid dalam sistem biologis dianggap berasal dari kemampuannya untuk mendonorkan elektron radikal bebas dan sebagai katalis pengkelat logam (M. Rahman et al., 2013). Beberapa flavonoid diketahui memiliki sifat lebih polar, sehingga digunakan pelarut etil asetat yang bersifat polar untuk menarik metabolit seperti alkaloid, sterol, terpenoid, dan flavonoid (Sri Widyawati et al., 2014). Sedangkan n-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar yang dapat menarik metabolit yang bersifat non polar (Romadanu et al., 2014). Terdapat flavonoid yang bersifat non polar yaitu isoflavon, flavanon, flavon, dan flavanol (Hendryani et al., 2015). Sehingga diduga, senyawa flavonoid yang teridentifikasi pada pelarut n-heksan dan etil asetat merupakan senyawa flavonoid

dengan fungsi yang berbeda (Iffah et al., 2018).

Klasifikasi aktivitas antioksidan senyawa, berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yaitu sangat kuat ( $< 50$  mg/L), kuat (50-100 mg/L), sedang (101-250 mg/L), lemah (250-500 mg/L), dan tidak aktif ( $>500$  mg/L) (Jun et al., 2003). Berdasarkan klasifikasi tersebut, maka fraksi etil asetat dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, sedangkan aktivitas antioksidan fraksi n-heksan dikategorikan tidak aktif. Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat daun pegagan ini disebabkan oleh adanya kandungan kimia seperti flavonoid dan senyawa fenolik lainnya. Flavonoid bersifat sebagai antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas. Hal ini disebabkan oleh adanya gugus hidroksil fenolik pada struktur molekul flavonoid yang juga bersifat sebagai pengkelat logam (Romadanu et al., 2014). Flavonoid mampu mendonorkan satu atom hidrogen dari gugus hidroksil (OH) fenolik pada saat bereaksi dengan radikal bebas (Kamilatussaniah et al., 2015).

Tabel 2. Nilai  $IC_{50}$  fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun pegagan

| No. | Sampel             | Absorbansi | IC (%) | Nilai $IC_{50}$ (mg/L) |
|-----|--------------------|------------|--------|------------------------|
| 1   | Fraksi etil asetat | 0.671      | 0.00%  | 325                    |
|     |                    | 0.580      | 13.56% |                        |
|     |                    | 0.486      | 27.57% |                        |
|     |                    | 0.392      | 41.58% |                        |
|     |                    | 0.292      | 56.48% |                        |
| 2   | Fraksi n-heksan    | 0.765      | 0.00%  | 731                    |
|     |                    | 0.659      | 13.86% |                        |
|     |                    | 0.553      | 27.71% |                        |
|     |                    | 0.428      | 44.05% |                        |
|     |                    | 0.349      | 54.38% |                        |
|     |                    | 0.227      | 70.33% |                        |

Hasil uji toksisitas dengan BSLT fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun pegagan terhadap udang *A.salina* terlihat pada Tabel III. Data tersebut menunjukkan bahwa jumlah kematian udang *A.salina* berbanding lurus dengan tingginya konsentrasi larutan. Nilai  $LC_{50}$  pada fraksi etil asetat lebih kecil yaitu 1202 mg/L dibandingkan fraksi n-heksan yaitu 2818 mg/L. Nilai  $LC_{50}$  merupakan konsentrasi senyawa yang dapat membunuh 50% larva udang *A. salina*. Semakin rendah nilai  $LC_{50}$  maka semakin tinggi efek sitotoksitasnya semakin

(Pusat et al., 2018). Kedua fraksi yang diujikan menunjukkan bahwa nilai  $LC_{50}$  fraksi etil asetat lebih rendah dibandingkan fraksi n-heksan (Gambar 1). Namun demikian kedua fraksi dinyatakan tidak aktif atau tidak toksik karena memiliki nilai  $LC_{50} > 1000$  mg/L. R. Hamidi et al., (2014) menyatakan tingkat toksisitas suatu ekstrak dikategorikan sebagai berikut:  $LC_{50} > 1000$  mg/L, tidak toksik (Non toxic),  $LC_{50}$  500-1000 mg/L, toksik rendah (Low toxic),  $LC_{50}$  100-500 mg/L, toksik sedang (Medium toxic),  $LC_{50}$  0-100 mg/L, toksik tinggi (High toxic).

Tabel 3. Hasil uji toksisitas fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun pegagan

| No. | Sampel             | Konsentrasi<br>(mg/L) | %<br>Mortalitas | $LC_{50}$ |
|-----|--------------------|-----------------------|-----------------|-----------|
| 1   | Fraksi Etil asetat | 10                    | 6               | 1202 mg/L |
|     |                    | 50                    | 23              |           |
|     |                    | 100                   | 36              |           |
|     |                    | 500                   | 40              |           |
|     |                    | 1000                  | 40              |           |
| 2   | Fraksi N-heksan    | 10                    | 3               | 2818 mg/L |
|     |                    | 50                    | 6               |           |
|     |                    | 100                   | 10              |           |
|     |                    | 500                   | 30              |           |
|     |                    | 1000                  | 36              |           |

Tingkat toksisitas suatu ekstrak dipengaruhi oleh kandungan zat aktifnya yang berpengaruh terhadap aktivitas farmakologi tanaman (Saxena et al., 2013). Kandungan zat aktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin dapat membunuh *A.salina* (Panggabean et al., 2020). Berdasarkan penelitian oleh Sieberi et al., (2020) menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan memiliki kandungan kimia antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, fenol dan terpenoid. Senyawa

flavonoid dan tanin dapat membunuh larva *A.salina* dengan mekanisme apoptosis. Senyawa alkaloid dapat membunuh *A.salina* dengan menyebabkan gangguan pencernaan. Alkaloid berperan sebagai racun melalui mulut larva yang mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya sehingga larva mati kelaparan (Panggabean et al., 2020).

Metode dan jenis pelarut dalam ekstraksi berpengaruh terhadap

kandungan zat aktif yang ditarik sehingga akan berbeda pula bioaktivitasnya (Azmir et al., 2013). Uji toksisitas dengan metode BSLT merupakan uji pendahuluan yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi adanya bioaktivitas dari sampel. seperti efek sitotoksik, fototoksik, pestisida, inhibisi enzim, dan regulasi ion (Thangapandi & Pushpanathan, 2014).

## KESIMPULAN

Fraksi n-heksan dan etil asetat daun pegagan terbukti memiliki kandungan flavonoid. Aktivitas antioksidan fraksi etil asetat tergolong lemah dengan nilai  $IC_{50}$  325 mg/L sedangkan fraksi n-heksan dikategorikan tidak aktif dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 2818 mg/L. Pada uji toksisitas menunjukkan nilai  $LC_{50}$  fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan berturut-turut adalah 1202 mg/L dan 2818 mg/L dan dikategorikan tidak toksik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) Kemenristek Dikti atas dukungan dana penelitian dosen pemula yang diberikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2013.01.014>
- Ghasemzadeh, A., & Jaafar, H. Z. (2011). Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts. *Journal of Medicinal Plant Research*, 5, 1147–1154.
- Hendryani, R., Lutfi, M., & Hawa, L. C. (2015). Antioxidant Extraction from Dried Red Betel Leaf (*Piper crotatum*) using Ultrasonic Assisted Extraction as Pre-Treatment (Study Comparative of Solvent and Extraction Time). *Journal of Bioprocess Commodities Tropical*, 3(2), 33–38.
- Iffah, A. A. D., Rani, C., & Samawi, M. F. (2018). Skrining Metabolit Sekunder pada Sirip Ekor Hiu *Carcharhinus melanopterus*. *Prosiding Simposium Nasional Kelautan Dan Perikanan*, 5 SE-. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/proceedingsimnaskp/article/view/4634>
- Jun, M., Fu, H. Y., Hong, J., Wan, X., Yang, C. S., & Ho, C. T. (2003). Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones from Kudzu Root (*Pueraria lobata* Ohwi). *Journal of Food Science*, 68(6), 2117–2122. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2621.2003.TB07029.X>
- Kamilatussaniah, K., Yuniastuti, A., & Iswari, R. (2015). Pengaruh Suplementasi Madu Kelengkeng Terhadap Kadar Tsa Dan Mda Tikus Putih Yang Diinduksi Timbal (Pb). *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 38(2), 108–114. <https://doi.org/10.15294/IJMNS.V38I2.5779>
- Mojab, F., Kamalinejad, M., Ghaderi, N., & Vahidipour, H. R. (2010). Phytochemical Screening of Some Species of Iranian Plants. *Iranian*

- Journal of Pharmaceutical Research*, Volume 2(Number 2), 77–82. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2010.16>
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA*, 2(2), 115–118. <https://doi.org/10.35799/JM.2.2.2013.3000>
- Nuari, S., Anam, S., & Khumaidi, A. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C.Weber) Briton & Rose). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 3(2), 118–125. <https://doi.org/10.22487/j24428744.o.v0.io.8771>
- Panggabean, L., Nurhamidah, N., & Handayani, D. (2020). Profil Fitokimia Dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan *Zanthoxylum acanthopodium* Dc (Andaliman) Menggunakan Metode BSLT. *ALOTROP*, 4(1). <https://doi.org/10.33369/ATP.V4I1.13711>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry: IJCB*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pusat, Z., Dan, P., Hutan, P., & Gunung Batu, J. (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>
- R. Hamidi, M., Jovanova, B., & Kadifkova Panovska, T. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60(01), 9–18. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002>
- Rahman, M., Hossain, S., Rahaman, K., Fatima, N., Nahar, T., Uddin, B., & Basunia, M. A. (2013). Antioxidant activity of *Centella asiatica* (Linn.) urban: impact of extraction solvent polarity. *J. Pharm. Phytochem.*, 1, 27–32.
- Rahman, N., Bahriul, P., & Diah, A. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 143–149.
- Romadanu, R., Hanggita, S., & Lestari, S. D. (2014). Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo nucifera*). *Jurnal Fishtech*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.36706/FISHTECH.V3I1.3523>
- Salamah, N., & Farahana, L. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) Dengan Metode Fosfomolibdat. *Pharmaciana; Vol 4, No 1 (2014): Pharmaciana*. <http://journal.uad.ac.id/index.php/HARMACIANA/article/view/394>
- Salazar-Aranda, R., Pérez-López, L. A., López-Arroyo, J., Alanís-Garza, B. A., & Waksman de Torres, N. (2011). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Plants from Northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 536139. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep127>
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., & Makang, V. M. A. (2019). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat Di Kabupaten Minahasa Utara. *CHEMISTRY PROGRESS*, 1(1), 47–53. <https://doi.org/10.35799/CP.1.1.200>

8.26

- Saxena, M., Jyoti, S., Nema, R., Dharmendra, S., & Abhishek, G. (2013). Phytochemistry of Medicinal Plants. *J Pharm Phytochem*, 1, 168–182.
- Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 2(2 SE-Original Research Articles), 82–89. <https://journal.ubaya.ac.id/index.php/MPI/article/view/1662>
- Sieberi, B. M., Omwenga, G. I., Wambua, R. K., Samoei, J. C., & Ngugi, M. P. (2020). Screening of the Dichloromethane: Methanolic Extract of *Centella asiatica* for Antibacterial Activities against *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*. *The Scientific World Journal*, 2020, 6378712. <https://doi.org/10.1155/2020/6378712>
- Sri Widyawati, P., Budianta, T. D. W., Kusuma, F. A., & Wijaya, E. L. (2014). Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indica* less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), 850–855.
- Sutardi, S. (2017). Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 35(3), 121. <https://doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016.p121-130>
- Syafitri, N. E., Bintang, M., & Falah, S. (2014). Kandungan Fitokimia, Total Fenol, dan Total Flavonoid Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Current Biochemistry*, 1(3), 105–115.
- 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*, April. <https://doi.org/10.12980/jclm.2.201414j29>
- Yahya, M. A., & Nurrosyidah, I. H. (2020). Antioxidant activity ethanol extract of gotu kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) with DPPH method (2,2-Diphenyl-1-Pikrilhidrazil). *Journal of Halal Product and Research (JPHR)*, 3(2), 106–112. <https://doi.org/10.20473/JHPR.VO3-3-ISSUE.2.106-112>