UJI TOKSISITAS MENGGUNAKAN METODE BSLT DAN SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK (*Melastoma malabathricum* L.)

Lia Fikayuniar*, Ermi Abriyani, Fioren Irwandira, Sinta Bela, Sartika Dewi

Fakultas Farmasi, Universitas Buana Perjuangan Karawang, Karawang, Jawa Barat, Indonesia

*Penulis Koresponding: lia.fikayuniar@ubpkarawang.ac.id

ABSTRAK

Tanaman *Melastoma malabathricum* L. atau yang biasa dikenal sebagai senduduk sering dimanfaatkan sebagai sumber pangan dan obat. Batang senduduk merupakan salah satu bagian dari tanaman senduduk yang belum banyak dimanfaatkan keberadaannya dibandingkan dengan bunga, buah dan daunnya. Tanaman senduduk memiliki aktivitas sebagai antidiare, patah tulang, gangguan saluran pencernaan, kejang, epilepsi, sakit perut, sariawan, antiinflamasi, antipireutik, luka, dan antioksidan, selain segudang manfaat *M. malabathricum* L. juga mengandung senyawa yang bersifat toksik. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas toksik dari ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol batang senduduk (*M. malabathricum* L.) terhadap larva udang *Artemia salina* L. guna menghindari resiko toksik pada manusia. Metode yang digunakan pada penelitian adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan 10 ekor larva udang *A. salina* L. pada masing-masing replikasi yang dilakukan sebanyak tiga kali setelahnya dilanjutkan dengan analisis probit untuk melihat presentase kematian larva udang. Pada penelitian juga didapatkan hasil bahwa pada ekstrak n-Heksana mengandung flavonoid, kuinon dan saponin, sedangkan ekstrak etil asetat dan metanol hanya mengandung flavonoid dan kuinon. Ekstrak batang senduduk (*M. malabathricum* L.) memiliki efek toksik dengan nilai LC50 < 1000 ppm atau pada ekstrak n-Heksana sebesar 1,66 ppm, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 56,23 ppm dan pada ekstrak metanol sebesar 128,82 ppm.

Kata kunci: Larva udang *Artemia salina* (L.), Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.), Toksisitas, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

ABSTRACT

Melastoma malabathricum L. plant or commonly known as senduduk is often used as a source of food and medicine. The stem of senduduk is one part of the senduduk plant that has not been widely utilized in existence compared to its flowers, fruits and leaves. Senduduk plant has activity as antidiarrhea, fractures, digestive tract disorders, melancholy, seizures, epilepsy, abdominal pain, thrush, anti-inflammatory, antipyretic, wound, and antioxidant, in addition to the myriad benefits of *M. malabathricum* L. also contains toxic compounds. Therefore, this study aims to determine the toxic activity of n-hexane extract, ethyl acetate, senduduk stem methanol (*M. malabathricum* L.) against *A. salina* L. shrimp larvae to avoid toxic risks in humans. The method used in the study was the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) using 10 shrimp larvae *A. salina* L. in each replication carried out three times afterwards followed by probit analysis to see the percentage of shrimp larva death. The study also found results that n-Hexane extract contains flavonoids, quinones and saponins, while ethyl acetate and methanol extracts contain only flavonoids and quinone. Senduduk stem extract (*M. malabathricum* L.) has a toxic effect with a value of LC50 < 1000 ppm or in the n-Hexane extract of 1.66 ppm, while in ethyl acetate extract of 56.23 ppm and methanol extract of 128.82 ppm.

Keywords: *Artemia salina* (L.) shrimp larvae, Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.), Toxicity, *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

PENDAHULUAN

Indonesia ialah salah satu pusat dari keanekaragaman hayati dunia, memiliki lebih dari 6.000 spesies organisme baik tanaman, hewan maupun mikroorganisme yang melimpah yang biasa digunakan untuk sandang pangan, obat-obatan (Umar 2006; Deskawati *et al.* 2014). Salah satu permasalahan penyakit yang hingga saat ini menjadi penyakit yang

tidak diketahui penyebabnya dan hanya diketahui faktor yang mempengaruhinya adalah sinar UV, obesitas, pola hidup yang tidak sehat, yaitu kanker. Hal tersebut dapat dicegah dengan pengobatan yang berasal dari bahan alam sebagai obat pendamping selain obat kimia yaitu termasuk menggunakan tanaman yang sudah dibuktikan secara empiris dan secara ilmiah dari beberapa penelitian.

Salah satu tanaman tersebut adalah *M. malabathricum* L. atau yang biasa dikenal sebagai senduduk. Batang senduduk jarang dimanfaatkan masyarakat. Salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai kebutuhan pangan dan obat jika dibandingkan dengan buah, bunga dan daun senduduk (Silalahi 2020). *M. malabathricum* L. memiliki manfaat, antara lain antidiare, patah tulang, gangguan saluran pencernaan, kejang, epilepsi, sakit perut, sariawan, antiinflamasi, antipiretik, luka, antioksidan dapat mencegah radikal bebas hingga pencegahan kanker, selain segudang manfaat *M. malabathricum* L. juga mengandung senyawa yang bersifat toksik (Silalahi, 2020). Tanaman Daun senduduk mengandung senyawa flavonoid, glikosida, saponin, tanin, dan steroid, sedangkan akarnya mengandung asam arsenik, triterpenoid, flavonoid dan saponin (Simanjourang, 2018).

Toksisitas merupakan suatu zat kimia atau alami yang memberikan efek yang merugikan yang dapat menyebabkan penyakit (dalam dosis yang sangat kecil) atau bahkan kematian (Woolley, 2008). Sifat toksik yang ada pada *M. malabathricum* L. dapat disebabkan dari beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya, seperti alkaloid (melumpuhkan fungsi syaraf dan otot, kulit memerah, serta penglihatan kabur), flavonoid, saponin (dapat menyebabkan diare, sakit perut, urin bercampur darah, dan sakit kepala) (Deskawati *et al*, 2014; Ompusunggu, 2017).

Uji toksisitas suatu senyawa perlu dilakukan, dikarenakan untuk mengukur efek toksik suatu senyawa, memastikan perkiraan dosis yang menyebabkan toksik yang akan berkaitan dengan nilai keamanan atau resiko toksikan pada manusia (Woolley, 2008) dan selain itu sifat toksik yang terkandung pada suatu tanaman dapat dimanfaatkan untuk pengembangan obat antikanker. Pengujian toksisitas yang paling sering digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), hal ini dikarenakan termasuk pada pengujian awal untuk mencari kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai senyawa antikanker baru terhadap bahan tanaman tertentu, dan juga merupakan metode yang tepat karena memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker, selain itu pengujian ini praktis, murah, sederhana, cepat dan akurat (Meyer *et al*, 1982).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak batang senduduk (*M. malabathricum* L.) menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) dan untuk mengetahui kandungan fitokimia pada ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol batang senduduk (*M. malabathricum* L.) menggunakan analisis kualitatif penapisan fitokimia, juga diharapkan dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat refluks, maserator, Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserator, aerator, cawan porselin, *chamber*, corong *buchner*, gelas kimia, pipet tetes, tabung reaksi, lampu pijar, lampu UV, mikropipet, pipa kapiler, *rotatory* evaporator, alat-alat gelas, seperangkat alat uji BSLT, spatel besi, neraca analitik, Vial 5 ml.

Bahan

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah n-heksana, etil asetat, dan ekstrak metanol batang senduduk (*M. malabathricum* L.).

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah larva udang *A. salina* (L.)

Bahan-bahan yang digunakan antara lain *aquadest*, etanol 95%, n-heksana, etil asetat, Larutan DMSO (Dimetil sulfoksida), Air laut, amonia, HCL 2N, CHCl₃, serbuk Mg, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi *Liebermann-Burchard*, amil alkohol, FeCl₃, NaOH.

Penyiapan Bahan

Bahan tanaman yang digunakan adalah batang senduduk (*M. malabathricum* L.) yang didapat dari manoko, Lembang-JABAR. Dan tanaman tersebut diberi perlakuan proses sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan dan sortasi kering, serta determinasi botani untuk pengujian kebenaran bahan alam yang dilakukan di BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional), Jakarta-Bogor.

Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia sampel uji batang senduduk yaitu untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam batang senduduk meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, saponin, steroid/terpenoid.

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, etanol 96%, yang dilakukan di Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Balai Penelitian Tanaman Rempah Obat, Bogor.

Uji Aktivitas Toksisitas dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Pengujian aktivitas toksisitas terdiri dari rangkaian penyiapan larva udang *A. salina* L. yang digunakan pada setiap pengujian adalah 10 ekor larva udang, penyiapan larutan induk, penyiapan berbagai variasi konsentrasi larutan uji untuk keseluruhan ekstrak, setiap pengukuran dilakukan tiga kali pengulangan kemudian hitung setiap jumlah larva udang yang mati selama waktu yang sesuai pada pengujian, Dan untuk pengukuran uji tokisitas dengan metode BSLT menggunakan larva *A. salina* L. dihitung dan diolah

menggunakan metode analisis probit guna mendapatkan nilai LC₅₀. pengukuran dengan cara menghitung jumlah larva *A. salina* L. yang mati 50 % dari total larva uji (10 ekor). Kemudian untuk data hasil uji toksisitas diperoleh dari nilai LC₅₀ digunakan analisis probit menggunakan SPSS. Berikut ini rumus dari efek toksisitas kematian larva *A. salina* L. : (Muaja *et al.*, 2013; Rizqillah, 2013).

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100 \%$$

Kemudian membuat persamaan regresi linier, $y = a +$

bx . Dengan keterangan:

y = nilai probit,

x = log konsentrasi,

a = Intercept (garis potong)

b = Slope (kemiringan dari garis regresi linier)

Nilai LC₅₀ merupakan nilai y yang dimasukkan kedalam

nilai $x = 50 \%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman diberi perlakuan Determinasi dengan tujuan untuk mengetahui suku dan jenis dari Senduduk (*M. malabathricum* L.). Hasil dari determinasi yang dilakukan adalah menunjukkan bahwa sampel yang digunakan benar merupakan tanaman Senduduk (*M. malabathricum* L.).

Proses penapisan fitokimia dilakukan pada ekstrak metanol, ekstrak etil asetat, ekstrak n-Heksana, dengan tujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder secara kualitatif, yang ditandai reaksi perubahan warna dan pembentukan pengendapan. Hasil dari penapisan fitokimia ditunjukkan pada tabel berikut ini:

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak n-heksana, Etil Asetat, Metanol Batangsenduduk

Kandungan Kimia	Hasil Pengamatan Ekstrak Batang Senduduk		
	n-Heksana	Etil asetat	Metanol
Alkaloid	-	-	-
Tanin	-	-	-
Saponin	+		
Kuinon	+	+	+
Steroid/ Triterpenoid	-	-	-
Flavonoid	+	+	+

Keterangan: (+) : mengandung senyawa yang diuji
(-) : tidak mengandung senyawa yang diuji

Hasil dari penapisan fitokimia terlihat bahwa ekstrak n-heksana Batang senduduk mengandung, saponin, kuinon dan flavonoid, ekstrak etil asetat dan metanol Batang senduduk sama-sama mengandung kuinon dan flavonoid.

Proses pembuatan ekstrak yang dilakukan terhadap simplisia batang senduduk pada penelitian ini adalah maserasi bertingkat, menggunakan pelarut berbeda kepolaran agar terpisahkan metabolit sekunder sesuai sifat kepolarannya masing-masing, yaitu menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, etanol 96%. Filtrat hasil ekstraksi yang diperoleh, dipekatkan dengan *rotary vaporator* hingga didapatkan ekstrak kental, dan kemudian dihitung % rendemnya yaitu :

Tabel 2. Hasil % Rendemen Dengan Metode Maserasi Bertingkat

Ekstrak	Rendemen (%)
n-Heksana	2, 71
Etil Asetat	11, 42
Metanol	5,31

Dari hasil rendemen ekstrak, pada tabel diatas menunjukkan bahwa yang nilai %rendemen yang paling besar adalah pada ekstrak etil asetat yaitu 11,42. Hal ini berarti yang paling besar tersari ekstrak nya adalah dengan pelarut etil asetat. Pengujian Toksisitas ekstrak Batang Senduduk dilakukan dengan metode BSLT terhadap larva udang *A. salina* L. Hasil uji toksisitas dapat dilihat dari banyaknya jumlah kematian larva *A.salina* L. yang dipengaruhi oleh ekstrak batang senduduk (*M. malabathricum* L.), dimana semakin rendah nilai LC₅₀, maka menunjukkan efek toksik yang semakin tinggi. Berikut ini merupakan tabel-tabel hasil uji mortalitas pada larva uji *A. salina* L pada masing-masing ekstrak yaitu ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol batang senduduk :

Tabel 3. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak n-Heksana batang senduduk terhadap larva udang *A. salina* L

Konsentrasi Ekstrak N-Heksana (ppm)	P. I Rata-rata Total kematian	P. II Rata-rata Total kematian	P. III Rata-rata Total kematian	Kematian Larva (%)
5	3	4	4	36,66
10	3	5	5	43,33
15	5	5	7	56,66
25	6	6	7	63,33
50	7	8	7	73,33
100	7	8	8	76,66
200	8	8	8	80
250	8	9	8	83,33
300	9	9	8	86,66

Keterangan:
P1 = Pengujian ke 1

P2 = Pengujian ke 2

P3 = Pengujian ke 3

Tabel 4. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak Etil asetat batang senduduk terhadap larva udang *A. salina* L.

Konsentrasi Ekstrak Etil Asetat (ppm)	P. I Rata-rata Total kematian	P. II Rata-rata Total kematian	P. III Rata-rata Total kematian	Ke-matian Larva (%)
5	2	2	1	16,66
10	2	3	2	23,33
15	2	3	3	26,66
25	4	4	3	36,66
50	5	3	5	43,33
100	5	6	5	53,33
200	7	6	6	63,33

Keterangan:

P1 = Pengujian ke 1

P2 = Pengujian ke 2

P3 = Pengujian ke 3

Tabel 5. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak Metanol batang senduduk terhadap larva udang *A. salina* L.

Konsentrasi Ekstrak Metanol (ppm)	P. I Rata-rata Total kematian	P. III Rata-rata Total kematian	P. III Rata-rata Total kematian	Ke-matian Larva (%)
5	0	0	1	3,33
10	1	2	0	10
15	3	3	1	23,33
25	4	2	2	26,66
50	4	1	3	26,66
100	4	3	3	33,33
200	6	5	7	60
250	6	5	6	56,66
300	8	6	6	66,66
350	10	8	7	83,33
400	10	8	10	93,33

Keterangan:

P1 = Pengujian ke 1

P2 = Pengujian ke 2

P3 = Pengujian ke 3

Pada pengujian toksisitas, digunakan ekstrak n-Heksana, etil asetat, metanol batang senduduk dengan berbagai variasi konsentrasi, dan pengamatan total kematian didapatkan dengan cara menjumlahkan larva udang yang mati pada setiap variasi konsentrasi di jumlahkan.

Hasil yang diperoleh pada penelitian kali ini dimana menentukan kematian larva *A. salina* L. yang dipengaruhi oleh ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol batang senduduk (*M. malabathricum* L.) dan didapati hasil bahwasanya ekstrak n-Heksan, etil asetat dan metanol batang senduduk memiliki nilai LC₅₀ pada ekstrak n-Heksan sebesar 1,66 ppm, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 56,23 ppm dan pada ekstrak metanol sebesar 128,82 ppm dimana pada konsentrasi tersebut dapat membunuh 50% larva udang. Analisis probit menggunakan SPSS dari nilai LC₅₀ dari ekstrak batang senduduk dapat diambil kesimpulan memiliki ketoksikan dengan melihat nilai LC₅₀ < 1000 ppm yang menyebabkan 50% kematian (Meyer *et al.*, 1982). Dan berdasarkan teori tersebut dapat disimpulkan ekstrak n-Heksan, etil asetat dan metanol batang senduduk bersifat toksik dan juga diperkirakan berpotensi sebagai antikanker terhadap larva *A. salina* L. karena nilai LC₅₀ < 200 ppm seperti yang telah dijelaskan sebelumnya yaitu LC₅₀ pada ekstrak n-Heksan sebesar 1,66 ppm, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 56,23 ppm dan pada ekstrak metanol sebesar 128,82 ppm.

Kematian larva udang *A. salina* L. tidak dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan, hal ini dijelaskan pada penelitian (Rizqillah, 2013) yang melakukan pengujian toksisitas menggunakan pelarut n-Heksan dimana digunakan DMSO yang ditambahkan air laut sebagai kontrol pada konsentrasi 5-2000 ppm tidak menimbulkan kematian pada larva udang, pada penelitian (Izati and Rudi Hendra 2019) melakukan pengujian toksisitas menggunakan pelarut etil asetat dimana digunakan DMSO yang ditambahkan air laut kontrol pada konsentrasi 10-1000 ppm tidak menimbulkan kematian pada larva udang, sedangkan pada penelitian (Lesdiana 2021) melakukan pengujian toksisitas menggunakan pelarut metanol dimana digunakan DMSO yang ditambahkan air laut sebagai kontrol pada konsentrasi 200, 400, 600, 800 ppm tidak menimbulkan kematian pada larva udang. Kematian larva udang *A. salina* L. melainkan diakibatkan oleh lapisan kulit yang sangat tipis sehingga dapat mempengaruhi proses difusi suatu zat dari lingkungan hidupnya yang akan berpengaruh pada proses metabolisme dalam tubuhnya (Sumihe *et al.*, 2014), sehingga senyawa aktif ekstrak batang senduduk berpengaruh sangat besar terhadap kematian larva udang (Harli, 2016).

KESIMPULAN

Ekstrak n-Heksana, etil asetat, metanol Batang Senduduk (*M. malabathricum* L.) terbukti memiliki efek toksik dengan nilai LC₅₀ < 1000 ppm atau pada ekstrak n-Heksan sebesar 1,66 ppm, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 56,23 ppm dan pada ekstrak metanol sebesar 128,82 ppm dengan menghambat reseptor, pecahnya membran sel dan racun pada perut larva udang *A. salina* L. yang mengakibatkan kematian.

Golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak n-Heksana, etil asetat, metanol Batang Senduduk (*M. malabathricum* L.) dengan metode penapisan fitokimia adalah senyawa flavonoid, kuinon, dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Deskawati, E., Purwaningsih, S. Karakterisasi Dan Uji Toksisitas Ikan Buntal Dari Perairan Pameungpeuk, Jawa Barat. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 2014; Volume 6, Nomor 1: h 101–107.
- Hafidloh, D. 2014. Sitotoksik Ekstrak Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L) dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya.
- Harli, A.S. 2016. Uji Toksisitas Fraksi Ekstrak Etanol Daun Pedang-Pedang (*Sansevieria trifasciata* Prain) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) (Skripsi). Makasar: Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. and Eka Setiasih, N. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa Oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 2015; Volume 4, Nomor 1: h 71–79.
- Izati, A. and Rudi Hendra. 2019. Uji Toksisitas Ekstrak Etil Asetat Dari Daun Ribu-Ribu (*Anisophyllea disticha*) (Skripsi). Riau: Universitas Riau.
- Lesdiana, L. Uji Toksisitas Dan Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Mangrove *Rhizophora mucronata*. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 2021: h 94–98.
- Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D. and McLaughlin, J. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 1982; Volume 45, Issue 05: h 31–34.
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. ., & Runtuwene, M. R. J. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA UNSRAT*, 2013; Volume 2, Nomer 2: h 115–118. <https://doi.org/10.35799/jis.13.2.2013.3052>
- Ompusunggu, M.L. 2007. Eksplorasi Tumbuhan Beracun di Kecamatan Dolok Panribuan, Sumatera Utara Kabupaten Simalungun, Provinsi Kawasan Hutan Diklat Pondok Buluh (Skripsi). Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Rizqillah, N. 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak n-Heksan Daun *Garcinia Benthami* Pierre terhadap Larva *Artemia Salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) (Skripsi). Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Silalahi, M. Kajian Bioaktivitas Senduduk (*Melastoma malabathricum*) dan Pemanfaatannya. *BEST Journal (Biology Education, Sains and Technology)*, 2020; Volume 3, Nomor 2: h 98–107.
- Simanjourang, D.S. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Senduduk Bulu (*Clidemia hirta* (L.) D.Don) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara In Vitro (Skripsi). Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Sumihe, G., Runtuwene, M.R.J., Rorong, J.A. Analisis Fitokimia Dan Penentuan Nilai LC₅₀ Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains*, 2014; Volume 4, Nomor 2: h 125.
- Umar, M.R. View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk. *Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya dan Keanekaragaman Hayati Secara Berkelanjutan*, 2016: h 274–282.
- Woolley, A. Woolley, A. *Guide to Practical Toxicology*, 2nd Edition. 2008. Boca Raton: CRC Press