

UJI SITOTOKSIK INFUSA DAUN TEH KEJEK (*Camellia sinensis* L. Kuntze) TRADISIONAL GARUT DENGAN METODE BSLT

Hesti Renggana^{1*}, Asman Sadino¹, Atun Qowiyyah¹, Aulia Adzkia Maulani¹, Dani Sujana²

¹Program Studi Farmasi, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut, Garut, Indonesia

²Program Studi Diploma III Farmasi, STIKes Karsa Husada Garut, Garut, Indonesia

*Email: hesti@uniga.ac.id

Received: 16-09-2023

Accepted: 27-06-2024

Published: 31-12-2024

INTISARI

Teh kejek (*Camellia sinensis* L. Kuntze) merupakan teh hijau dengan kandungan antioksidan yang tinggi sehingga berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik. Salah satu uji toksisitas dari suatu ekstrak atau senyawa yaitu uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan menggunakan larva *Artemia* yang ditentukan berdasarkan jumlah kematiannya. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui potensi sitotoksik infusa Teh Kejek terhadap larva *Artemia franciscana* Kellogg dengan metode BSLT. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan 150 ekor larva sebagai hewan uji dengan konsentrasi uji yang dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kontrol negatif dan 4 seri konsentrasi infusa, masing masing konsentrasi berisi 10 ekor larva dengan replikasi sebanyak tiga kali. Konsentrasi infusa yang digunakan berturut-turut adalah 1000, 500, 100 dan 50 ppm. Hasil pengamatan ditentukan terhadap kematian larva 24 jam setelah pemberian infusa. Hasil dari analisis probit menunjukkan nilai LC_{50} dari infusa daun Teh Kejek adalah 6,1317 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman *Camellia sinensis* memiliki potensi sitotoksik terhadap larva *Artemia* menurut metode BSLT yang digunakan dengan nilai $LC_{50} < 30$.

Kata kunci: Brine shrimp, BSLT, *Camellia sinensis*, sitotoksik, teh kejek

ABSTRACT

Kejek tea (*Camellia sinensis* L. Kuntze) is a green tea with high antioxidant content so that it has potentially cytotoxic activity. One of the toxicity tests of an extract is BSLT test using *Artemia* which are determined based on the number of larvae death. The purpose of this study was to determine the cytotoxic potential of kejek tea infusion against *Artemia franciscana* Kellogg larvae using the Brine Shrimp Lethality Test. This study was an experimental study using 150 larvae of *Artemia* with the test concentration divided into 5 groups, 1 negative control and 4 series of infusion concentrations, each concentration containing 10 larvae with three replications. The infusion concentrations used were 1000, 500, 100 and 50 ppm, respectively. Observations were determined on larval mortality 24 hours after infusion. The results of the probit analysis showed that the LC_{50} of infusion of Kejek tea leaves was 6.1317 ppm. This indicated that the infusion of kejek tea leaves had cytotoxic potential against *Artemia* larvae according to the BSLT method with a LC_{50} of < 30 ppm.

Keywords: Brine shrimp, BSLT, *Camellia sinensis*, cytotoxic, kejek tea

*Corresponding author:

Nama : Hesti Renggana
Institusi : Program Studi Farmasi, Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut.
Alamat institusi : Jalan Jati No. 42 B Tarogong Kab. Garut 44151 Jawa Barat
E-mail : hesti@uniga.ac.id

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk kedalam 10 negara penghasil teh tertinggi di dunia pada tahun 2020 (FAO, 2020). Provinsi yang paling banyak menyumbang teh di Indonesia ialah Jawa Tengah, Sumatera Utara dan Jawa Barat. Jawa Barat menyumbang sekitar 70% produksi teh nasional (Indonesia Investment, 2015). Salah satu perkebunan teh yang terletak di Jawa Barat dengan produk yang paling dikenal masyarakat luas yaitu teh kejek terdapat di Garut. Teh tradisional ini sudah bertahan hingga 200 tahun. Teh kejek diproses dengan menggunakan cara tradisional dan memiliki karakteristik yang khas. Proses pengolahan yang menjadi ciri khas teh ini adalah penggilingan daun teh menggunakan kaki dengan cara diinjak menggunakan sepatu khusus serta proses pemanasan dengan cara penyangraian sehingga memiliki aroma yang khas (Aldizal et al., 2021).

Teh kejek merupakan teh yang tidak melewati proses fermentasi, sehingga digolongkan sebagai teh hijau oleh masyarakat dan pengrajin teh lain (Dzakiyyah et al., 2023). Teh hijau memiliki kandungan antioksidan yang paling tinggi dibandingkan dengan jenis teh yang lain. Urutan dengan aktivitas antioksidan paling tinggi diantaranya teh hijau > Ishizuchi-kurocha > Goishi-cha > Awabancha > Batabata-cha (Horie et al., 2017). Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat mengeluarkan satu atau lebih elektron pada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Sujana et al., 2020), jika nilai antioksidan dari suatu bahan tinggi maka kemungkinan bahan tersebut memiliki potensi sebagai antikanker yang bekerja dengan cara menstabilkan radikal dengan melengkapi kekurangan elektron dari radikal bebas sehingga sel-sel terlindungi dari senyawa reaktif tersebut (Flieger et al., 2021). Kategori LC₅₀ diantaranya sangat toksik <30 ppm, toksik, 30-1000 ppm dan tidak toksik > 1000 ppm (Andini et al., 2020). Nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi yang dapat membunuh setengah dari sel kanker (sitotoksik). Besarnya potensi sitotoksik dapat digambarkan dengan tinggi rendah nya nilai LC₅₀ (Aldizal et al., 2021; Gusungi et al., 2020; Haryoto et al., 2013)

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antikanker dari suatu senyawa (Haryoto et al., 2013). Salah satu metode awal untuk melakukan uji sitotoksik adalah metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode skrining awal untuk menentukan ketoksikan suatu ekstrak atau senyawa. Sifat sitotoksik dari senyawa dapat diketahui berdasarkan kematian larva *A. franciscana* pada konsentrasi tertentu, jumlah larva yang mati dapat dihitung menggunakan metode analisis probit untuk menentukan nilai LC₅₀. Apabila harga LC₅₀ <1000 ppm maka ekstrak tersebut dapat dikatakan toksik. Besarnya potensi sitotoksik dapat digambarkan dengan tinggi rendah nya nilai LC₅₀. (Budiman and Hidayat, 2021; Hartati, 2020).

METODE PENELITIAN

Bahan

Serbuk simplisia daun Teh Kejek (*Camellia sinensis L.*), Aquades (*Brataco*®), HCl 10%, Telur Udang (*Supreme Plus*®), Kloroform (*JT Becker Jerman*®), Etanol 96% (*Brataco*®), Ammonia 5%, Mayer, Dragendorf, Amil Alkohol (*Merck Jerman*®), Kapas, FeCl₃ 1%, NaOH, Eter, Toluena (*Brataco*®), Magnesium (*Merck Jerman*®), Methanol (*Brataco*®), Lieberman Burchard, dan Ragi Roti (*Fermipan*®).

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquarium, aerator (*Sakkai Pro*®), lampu (*Sakkai Pro*®), wadah plastik, gunting (*Joyko*®), oven (*B-One ov-65*®), penangas air (*Memmert*®), hot plate (*Merko*®), panci, gelas kimia 100 mL (*Pyrex*®), batang pengaduk, cawan krus, kertas saring bebas abu (*Whathman*®), kertas perkamen, timbangan analitik (*Fujitsu FS-AR*®), desikator, silica

gel (GF245®), botol semprot, pipet tetes, vial, labu Erlenmeyer (Herma®), kaca pembesar, labu ukur (Bomex®), botol besar, labu alas bulat (Herma®), pisau, mortir dan stamper.

Bahan uji dan Hewan

Hewan uji dalam penelitian ini yaitu *Artemia franciscana* Kellogg berumur 48 jam, serta Teh Kejek asal Garut dilakukan determinasi di Sekolah Tinggi Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung (ITB).

Karakteristik Simplisia

Penilai karakteristik simplisia Teh Kejek dilakukan sesuai prosedur Aldizal et al (2021).

Skrining Fitokimia Simplisia

Alkaloid

Alkaloid diamati dengan 3 cara yang terlebih dahulu dibuat campuran 2 gram serbuk simplisia kemudian tambah 5 mL amonia 5% (digerus dalam mortar), tambahkan 20 mL CHCl_3 dan digerus dengan kuat. Larutan A: kertas saring dibasahi dengan campuran yang sudah dibuat lalu ditetesi dengan pereaksi dragendorff. Larutan B1: dicampurkan 2 mL larutan yang telah dibuat dengan pereaksi meyer. Larutan B2: dicampurkan 5 mL larutan yang telah dibuat dengan pereaksi dragendorff (Redjeki, 2015).

Flavonoid

Tabung reaksi diisi dengan simplisia yang berisi serbuk magnesium dan HCl 2N, kemudian dipanaskan. Setelah dipanaskan dalam penangas air, campuran tersebut disaring, dan filtratnya ditambahkan amil alkohol serta dikocok. Perubahan warna menjadi kuning atau merah menunjukkan keberadaan flavonoid (Redjeki, 2015).

Saponin

Saponin diamati dengan memanaskan sejumlah simplisia. Setelah dipanaskan, simplisia dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok kuat selama 15 detik dengan arah vertikal. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil selama 30 menit (Redjeki, 2015).

Kuinon

Simplisia dipanaskan dalam tabung reaksi. Setelah dipanaskan dalam penangas air, simplisia dalam tabung reaksi disaring, dan filtrat yang terbentuk ditambahkan KOH 5%. Perubahan warna dari kuning menjadi merah menunjukkan adanya senyawa kuinon (Redjeki, 2015).

Tanin

Larutan dibuat dengan cara melarutkan 1 gram serbuk simplisia dalam 100 mL aquades, kemudian dididihkan selama 15 menit, dan disaring dalam keadaan panas. Filtrat yang terbentuk diambil sebanyak 10 mL, lalu ditambahkan tiga tetes FeCl_3 , terbentuknya warna merah keunguan menandakan positif mengandung kuinon (Ditjen POM, 2000).

Steroid

Sebanyak 1 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 25 mL eter selama 2 jam, lalu disaring. Sebanyak 5 mL filtrat dimasukkan ke cawan uap lalu panaskan dan ditambahkan pereaksi lieberman buchard. Kehadiran steroid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru kehijauan (Ditjen POM, 2000).

Triterpenoid

Pereaksi lieberman buchard dan ekstrak senyawa Triterpenoid ditunjukkan dengan perubahan warna ungu, sedangkan perubahan warna biru-hijau menunjukkan reaksi positif steroid/triterpenoid (Redjeki, 2015).

Preparasi Bahan Uji

Bagian tanaman yang akan digunakan sebagai bahan penelitian disortir terlebih dahulu lalu dilakukan tahap pengeringan. Kemudian, dihaluskan menggunakan mortir untuk mendapatkan serbuk simplisia. Simplisia yang berbentuk serbuk lebih mudah dalam mengeluarkan zat aktif selama proses ekstraksi karena semakin besar tingkat kehalusan, semakin besar luas permukaan, maka semakin mudah untuk mengekstrak bahan aktif dari simplisia. Pengujian dilakukan dengan membuat larutan uji dengan konsentrasi 1000, 500, 100, dan 50 ppm dengan masing-masing konsentrasi dibuat tiga kali pengulangan. Sebanyak 10 mg serbuk simplisia dilarutkan dengan 100 mL aquadest lalu

dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 90°C selama 15 menit lalu saring sampai diperoleh volume 100 mL, apabila larutan kurang dari 100 mL maka residu yang terkumpul dibilas kembali menggunakan aquadest panas sehingga diperoleh volume 100 mL (infusa teh kejek 1000 ppm) (Febrianti et al., 2019). Selanjutnya disiapkan tabung vial yang telah dikalibrasi 5 mL untuk pengenceran setiap konsentrasi. Larutan uji 1000 ppm dibuat dengan cara memasukan 5 mL larutan 1000 ppm, Pembuatan konsentrasi 500 ppm dengan cara pengenceran larutan 1000 ppm sebanyak 2,5 mL ditambahkan aquadest hingga 5 mL maka diperoleh larutan uji 500 ppm. Kemudian dipipet 0,5 mL larutan 1000 ppm lalu ditambahkan aquadest sampai 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan uji 100 ppm, kemudian diambil 0,25 mL larutan 1000 ppm lalu di tambahkan aquadest sampai 5 mL untuk memperoleh larutan uji 50 ppm

Preparasi Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah larva *Artemia franciscana* berumur 48 jam sebanyak 150 ekor. Hewan uji diperoleh dari penetasan telur *Artemia* dalam aquarium berisi air laut buatan (1000 mL aquadest: 38 gram garam nonionik) sebanyak 1000 mL. Aquarium tersebut dibagi menjadi 2 sisi yaitu sisi gelap dan terang, untuk bagian terang dilengkapi penerangan lampu ($\pm 3-4$ watt) dan bagian gelap diberikan aerasi yang baik selama 48 jam. Telur *A. franciscana* letakan pada bagian gelap dan biarkan selama 48 jam hingga telur menetas. Setelah menetas, telur dipisahkan dari cangkangnya dan dikumpulkan pada wadah yang lain, setelah itu hewan siap digunakan untuk pengujian.

Evaluasi Aktivitas Sitotoksik

Masing-masing vial diisi dengan 10 ekor larva *Artemia* lalu ditambahkan air laut buatan hingga batas kalibrasi (5 mL), kemudian lakukan pengamatan I dengan cara mengamati kematian larva selama 6 jam dengan selang waktu 1 jam, selanjutnya pengamatan II dilakukan pada 12, 18, dan 24 jam.

Perlakuan terhadap hewan uji dilakukan dengan 4 seri konsentrasi infus yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, dan 50 ppm, disertai 1 kontrol negatif yang hanya berisi air laut. Penambahan kontrol negatif dilakukan untuk mengetahui pengaruh air laut dan faktor lain terhadap kematian larva. Sehingga kematian larva dapat dipastikan akibat pengaruh ekstrak yang ditambahkan. Mengamati larva selama beberapa waktu untuk perhitungan kematiannya. Jika tidak ada pergerakan larva, dihitung sebagai kematiannya. Dari data yang dihasilkan dihitung LC_{50} dengan metode kurva label probit.

Analisis Data

Grafik kurva label probit dapat dibuat menggunakan Microsoft Excel dengan menggambarkan hubungan linear antara nilai probit dan log konsentrasi. Grafik menampilkan persamaan $Y=a+bX$, di mana Y adalah nilai probit dan X adalah log konsentrasi. Selain itu, nilai R^2 juga dapat dihitung untuk mengukur sejauh mana variabel tersebut berkorelasi. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan tingkat korelasi yang tinggi antara variabel-variabel tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi dilakukan secara infusa. Metode infusa dipilih dalam penelitian ini dikarenakan proses pengerjaannya sederhana, mudah dan murah, selain itu metode infusa memiliki proses yang cenderung sama dengan proses pengolahan teh yang dilakukan masyarakat.

Berdasarkan hasil determinasi dengan dokumen Nomor: 5331/ITI.C11.2/TA.00/2022 dipastikan bahwa sampel berupa simplisia daun Teh Kejek memiliki nama latin *Camellia sinensis* L. Kuntze, sedangkan hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini telah teridentifikasi merupakan *Artemia franciscana* Kellogg yang dilengkapi dengan dokumen Nomor: 6139/ITI.C11.2/TU/2022.

Karakterisasi simplisia dilakukan untuk melihat bagaimana karakteristik dari simplisia *Camellia sinensis* L. Kuntze yang digunakan sebagai standarisasi bahan baku untuk penelitian. Kemudian, hasil pemeriksaan karakteristik daun Teh Kejek akan dibandingkan dengan pustaka, agar diketahui bahwa simplisia termasuk kedalam kriteria aman atau tidak. Uji kadar abu total, uji kadar larut air, uji kadar abu tidak larut asam, uji ekstrak larut etanol, uji kadar air, dan uji susut pengeringan merupakan bagian dari karakterisasi simplisia yang dilakukan.

Tabel I. Hasil karakterisasi simplisia teh kejek

Uji Karakteristik	Hasil	Literatur (Kemenkes RI, 2017)
Susut Pengeringan	6,6473%	<10%
Kadar Air	0,8%	<16%
Kadar Sari Larut Air	13,66%	>8,4%
Kadar Sari Larut Etanol	20,35%	>4,5%
Kadar Abu Total	4,144%	<5,6%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,56%	<0,6%

Adapun hasil karakterisasi daun Teh Kejek (Tabel I) untuk kadar abu total adalah 4,144%, untuk kadar abu tidak larut asam adalah 0,56%, untuk kadar sari larut air diperoleh sebesar 13,66%, untuk kadar sari larut etanol sebesar 20,35%, untuk kadar air sebesar 0,8%, dan susut pengeringan adalah 6,6473%. Secara keseluruhan hasil dari karakteristik simplisia Teh Kejek masuk dalam rentang kadar normal dan hasilnya tidak jauh berbeda dengan farmakope herbal, artinya simplisia Teh Kejek memenuhi standar mutu untuk dijadikan simplisia. Hasil penapisan fitokimia simplisia dan infusa daun the kejek dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Infusa daun teh kejek

Uji Fitokimia	Simplisia	Infusa
Flavonoid	+	+
Alkaloid	+	+
Steroid/triterpenoid	+	-
Tannin	+	+
Saponin	+	+
Kuinon	+	+

Keterangan: (+) terdeteksi (-) tidak terdeteksi

Hasil pada Tabel II menunjukkan bahwa simplisia daun Teh Kejek mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid/triterpenoid, tannin, saponin, serta kuinon. Sedangkan untuk Teh Kejek dalam bentuk infusa mengandung metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, tannin, saponin dan kuinon. Infusa daun Teh Kejek tidak mengandung senyawa steroid/triterpenoid hal ini disebabkan oleh senyawa steroid/ troterpenoid larut dalam lemak sedangkan infusa menggunakan pelarut air, sehingga senyawa steroid tidak terdapat dalam infusa daun Teh Kejek (Vrancheva et al., 2021).

Metode penyaringan pertama yang menggunakan hewan uji *Artemia franciscana* Kellogg untuk mengetahui efek sitotoksik akut suatu senyawa atau ekstrak adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Jumlah kematian dapat digunakan untuk menentukan toksisitas suatu senyawa. *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) parameter untuk *Artemia franciscana* Kellogg Menggunakan metode BSLT, ekstrak dianggap beracun jika nilai LC₅₀ kurang dari 1000 µg/mL (Andini et al., 2020). Data hasil pengamatan kematian Larva udang oleh infusa daun *Camellia sinensis* L. Kuntze disajikan pada tabel III.

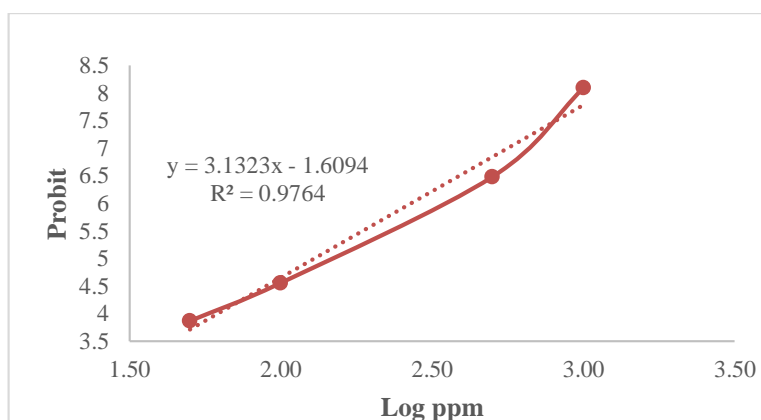
Tabel III. Kematian *artemia* selama 24 jam

Kelompok	Rerata jumlah larva mati	Kematian n (%)	Log Konsentrasi	Nilai Probit	
Uji	1000 ppm	10,00±0,00	100%	3,00	8,09
	500 ppm	9,33±0,58	93%	2,70	6,48
	100 ppm	3,33±1,53	33%	2,00	4,56
	50 ppm	1,33±1,15	13%	1,70	3,87
Kontrol	Kontrol air laut	0,00±0,00	0%	-	-

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah rata-rata kematian larva berbanding lurus dengan konsentrasi infusa Teh Kejek (Tabel III), semakin tinggi konsentrasi infusa menyebabkan semakin tinggi kematian larva. Persamaan garis lurus, $y = 3,1323x - 1,6094$, dihasilkan dari hasil regresi linier (Gambar 1).

Tabel IV. Hasil analisis probit

Waktu (jam ke-)	Kelompok				
	1000 ppm	500 ppm	100 ppm	50 ppm	Kontrol
1	2	1	0	0	0
2	2	1	0	0	0
3	3	1	1	0	0
4	5	5	3	0	0
5	6	5	4	1	0
6	6	5	5	1	0
12	28	12	7	2	0
18	30	27	9	2	0
24	30	28	10	4	0



Gambar 1. Grafik analisis probit

Persamaan ini menunjukkan konsentrasi log dari nilai probit yang diperoleh dari persentase kematian larva (Tabel IV). Seperti yang ditunjukkan grafik analisis di atas, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin tinggi persentase kematian larva *Artemia*. Hasil uji (BSLT) di atas diperoleh nilai LC_{50} sebesar 6,1317 ppm menunjukkan bahwa infusa daun Teh Kejek bersifat sangat toksik (<30 ppm).

Hasil penelitian ini melaporkan bahwa infusa Teh Kejek bersifat sangat toksik dan dapat dikembangkan untuk penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa sitotoksik tumbuhan sebagai usaha pengembangan obat alternatif antikanker. Kehadiran flavonoid pada Teh Kejek memiliki kemampuan untuk mencegah pertumbuhan tumor atau kanker. Ada banyak hipotesis tentang bagaimana flavonoid bekerja untuk melawan kanker. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dengan memicu jalur apoptosis pada sel kanker (Kopustinskiene et al., 2020). Fragmentasi DNA adalah mekanisme yang menyebabkan apoptosis sel. Zat oksigen reaktif seperti radikal hidroksil melepaskan rantai DNA proksimal untuk memulai proses fragmentasi ini. Dampak lain dari flavonoid adalah bertindak sebagai penghambat proliferasi tumor/kanker (Wang et al., 2020). Selain itu, juga diketahui bahwa flavonoid mampu menghambat aktivitas enzim protein kinase, yang kemudian menghambat proses transduksi sinyal dari membran ke inti sel (Panche et al., 2016). Katekin dari teh hijau dalam melawan kanker telah dilaporkan diantaranya menekan spesies oksigen reaktif (ROS), induksi apoptosis dan induksi penghentian siklus sel (Chaudhary et al., 2023).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa infusa daun teh Kejek memiliki aktivitas sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan metode (BSLT) dilihat dari nilai LC₅₀ sebesar 6,1317 dengan kategori sangat toksik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengungkapkan rasa terima kasihnya kepada LP4M FMIPA UNIGA karena telah memberikan dukungan dana hibah internal penelitian dan publikasi ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aldizal, R., Rizkio, M., Rustamsyah, A., Fadhlillah, F.M., Perdana, F., Inayah, A.A, (2021) 'The Effect Of Processing Methods On Characteristic Phenolic Content, Flavonoid Content, and Antioxidant Activity of Garut Traditional Tea (Kejek Tea)'. *Jurnal Imiah Farmako Bahari*, 12, 69–79.
- Andini, A., Nidianti, E., & Prayekti, E. (2020) 'Cytotoxicity Assay of Chitosan-Collagen Wound Dressing using Brine Shrimp Lethality Test Methods'. *Biomedika*, 13(1), 9–14. <https://doi.org/10.31001/biomedika.v13i1.680>
- Budiman, F.A., Hidayat, F., (2021) 'Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Umbi Bit (Beta Vulgaris L.) Dengan Metode Bslt (Brine Shrimp Lethality Test)'. *Jurnal Health Sains* 2, 310–315. <https://doi.org/10.46799/jhs.v2i3.129>
- Chaudhary, P., Mitra, D., Das Mohapatra, P. K., Oana Docea, A., Mon Myo, E., Janmeda, P., Martorell, M., Iriti, M., Ibrayeva, M., Sharifi-Rad, J., Santini, A., Romano, R., Calina, D., & Cho, W. C. (2023) 'Camellia sinensis: Insights on its molecular mechanisms of action towards nutraceutical, anticancer potential and other therapeutic applications'. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(5), 104680. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104680>
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan (Ditjen POM). (2000) 'Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama'. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Dzakriyyah, M., Rustamsyah, A., Aldizal Mahendra Rizkio Syamsudin, R., Sujana, D., (2023) 'Review: Aktifitas Farmakologi Dan Studi Fitokimia Teh Hitam Indonesia (Camellia sinensis (L.) Kuntze)', *Medical Sains Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 8(1):193-200.
- FAO, (2020) 'Top 10 Country Production of Tea leaves 2020'. https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity.
- Febrianti, D.R., Mahrita, M., Ariani, N., Putra, A.M.P., Noorcahyati, N., (2019) 'Uji Kadar Sari Larut Air Dan Kadar Sari Larut Etanol Daun Kumpai Mahung (Eupathorium inulifolium H.B.&K)'. *Jurnal Pharmascience*, 6(1), 19. <https://doi.org/10.20527/jps.v6i2.7346>
- Flieger, J., Flieger, W., Baj, J., Maciejewski, R., (2021) 'Antioxidants: Classification, natural sources, activity/capacity measurements, and usefulness for the synthesis of nanoparticles.' *Materials*, 14. <https://doi.org/10.3390/ma14154135>
- Gusungi, D.E., Maarisit, W., Hariyadi, H., Potalangi, N.O. (2020) 'Studi Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung Dendrophthoe pentandra'. *Biofarmasetikal Tropis*, 3 (1), 166–174. <https://doi.org/10.55724/j.biofar.trop.v3i1.274>
- Hartati, F.K. (2020) 'Baun dan Pelepah Talas, Kandungan Nutrisi, Fitokimia, Antioksidan dan Uji Toksisitas'. *Makassar Natural Product Journal (MNPJ)*, 2 [2] (14), 129-141.
- Haryoto, Muhtadi, Indrayudha, P., Azizah, T., Suhendi, A., Haryoto, Muhtadi, Peni Indrayudha, Tanti Azizah, A.S., (2013) 'Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (Cynometra ramiflora Linn) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR'. *Jurnal Penelitian Saintek*, 18, 21–28.
- Horie, M., Nara, K., Sugino, S., Umeno, A., & Yoshida, Y. (2017) 'Comparison of antioxidant activities among four kinds of Japanese traditional fermented tea'. *Food Science and Nutrition*, 5(3), 639–645. <https://doi.org/10.1002/fsn3.442>
- Indonesia Investment, (2015). *Teh Indonesia*. Retrieved September 15, 2023, <https://www.indonesia-investments.com/id/bisnis/komoditas/teh/item240>

- Kemenkes RI, (2017) 'Farmakope Herbal Indonesia'. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia Edisi IV, 213–218.
- Kopustinskiene, D.M., Jakstas, V., Savickas, A., Bernatoniene, J., 2020. Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*. Feb 12;12(2):457. <https://doi.org/10.3390/nu12020457>
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R., 2016. Flavonoids: An overview. *J Nutr Sci*. 5:e47 <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Redjeki, S., 2015. Uji Aktivitas Antimikroba Infusum Teh Hijau Dan Teh Hitam (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi* 11, 104. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v11i1.50>
- Sujana, D. Wardani, D., Nurul, N., (2020) 'Review Artikel : Potensi Likopen Dari Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L) Sebagai Antiaging Topikal'. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 3, 56–65. <https://doi.org/10.36387/jifi.v3i1.479>
- Sari, I., Miranda, T., Sadli, (2016) 'The Cytotoxic Activity Of N-Hexane The Cytotoxic Activity Of N-Hexane Extract Of Kersen (*Muntingia calabura* Linn.) Extract Of Kersen (*Muntingia calabura* Linn.) Leaves Using The Brine Shrimp Lethality Leaves Using The Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method'. *Jurnal Natural*, 16, 1631–1638.
- Vrancheva, R., Ivanov, I., Dincheva, I., Badjakov, I., Pavlov, A., (2021) 'Triterpenoids and other non-polar compounds in leaves of wild and cultivated *vaccinium* species'. *Plants* 10, 1–16. <https://doi.org/10.3390/plants10010094>
- Wang, Q., Xie, C., Xi, S., Qian, F., Peng, X., Huang, J., Tang, F., (2020) 'Radioprotective effect of flavonoids on ionizing radiation-induced brain damage'. *Molecules*. 25(23), 5719. <https://doi.org/10.3390/molecules25235719>