

TOKSISITAS KOMBINASI EKSTRAK ROSELA (*Hibiscus sabdariffa L.*) DAN PARE (*Momordica charantia*) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Elfred Rinaldo Kasimo¹, ^KLisa Savitri¹, Mujtahid Bin Abd Kadir¹, Moh Alimansur¹, Ester Lianawati Antoro¹

¹Universitas Kadiri, Jl. Selomangleng, No.1, Kediri, Jawa Timur, Indonesia

Info Artikel:

Disubmit: 15-11-2023

Direvisi: 30-11-2023

Diterima: 01-12-2023

Dipublikasi: 28-12-2023

^KPenulis Korespondensi:

Email: lisasavitri@unik-kediri.ac.id

Kata kunci:

**BSLT,
Hibiscus sabdariffa L,
Momordica charantia**

DOI: 10.47539/gk.v15i2.441

ABSTRAK

Rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*) dan pare (*Momordica charantia*) mengandung senyawa kimia yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti asam fenolat, tannin, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, glikosida, dan steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat toksisitas ekstrak kombinasi bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*) dan buah pare (*Momordica charantia*) terhadap larva *Artemia salina* Leach menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Tingkat toksisitas tersebut ditunjukkan dengan nilai LC50. Metode: Penelitian uji toksisitas kombinasi ekstrak *Hibiscus sabdariffa L* dan *Momordica charantia* terhadap larva udang (*Artemia salina L.*) menggunakan metode BSLT. Dalam penelitian ini, ekstrak kombinasi bunga rosela dan buah pare diuji toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina Leach* dengan konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 200 ppm, 100 ppm, dan 50 ppm. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pada masing-masing konsentrasi. Data hasil pengujian dianalisis menggunakan analisa probit, dan log konsentrasinya dihitung untuk mengetahui nilai LC50. Hasil : Ekstrak kombinasi bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa L.*) dan buah pare (*Momordica charantia*) memiliki nilai LC50 sebesar 241,8 ppm.

ABSTRACT

Roselle (*Hibiscus sabdariffa L.*) and bitter melon (*Momordica charantia*) contain chemical compounds that are beneficial for health, such as phenolic acids, tannins, flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, glycosides, and steroids. This study aims to determine the level of toxicity of the combined extract of roselle flowers (*Hibiscus sabdariffa L.*) and bitter melon fruit (*Momordica charantia*) against *Artemia salina* Leach larvae using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. The LC50 value indicates the level of toxicity. Process: Research the toxicity test of a combination of *Hibiscus sabdariffa L.* and *Momordica charantia* extracts against shrimp larvae (*Artemia salina L.*) using the BSLT method. This research tested the combined extract of roselle flowers and bitter melon fruit for toxicity against *Artemia salina* Leach larvae at concentrations of 1000 ppm, 500 ppm, 200 ppm, 100 ppm, and 50 ppm. The test was carried out three times at each concentration. The test result data was analyzed using probit analysis, and the concentration log was calculated to determine the LC50 value. Results: The combination extract of roselle flowers (*Hibiscus sabdariffa L.*) and bitter melon fruit (*Momordica charantia*) had an LC50 value of 241.8 ppm.

Keywords: BSLT, Hibiscus sabdariffa L, Momordica charantia

PENDAHULUAN

Rosela (*Hibiscus sabdariffa L*) berasal dari keluarga *Malvaceae*, biasa disebut teh asam atau roselle atau sorrel (Inggris), karkade (Arab), yakuwa (Hausa), amukan/isapa (Yoruba) dan okworo ozo (Ibo). Tanaman ini dibuat jadi minuman panas atau dingin yang digunakan di banyak negara (Bule *et al.*, 2020). Bunga rosela mengandung berbagai senyawa polifenol, terutama antosianin, alkaloid, dan asam organik (Sarbin *et al.*, 2019). Rosela juga memiliki berbagai manfaat kesehatan. Penelitian menunjukkan bahwa rosella memiliki aktivitas biologis yang dapat membantu menurunkan tekanan darah, mencegah mutasi sel, mencegah kanker, menetralkan radikal bebas, meredakan kejang otot, mengurangi kecemasan, menurunkan aktivitas sistem saraf pusat, meningkatkan aktivitas serotonin, dan mengurangi peradangan hati, serta menurunkan kadar gula darah (Kasimo *et al.*, 2022).

Pare (*Momordica charantia*) adalah tanaman yang berasal dari daerah tropis dan subtropis. Tanaman ini dikenal dengan berbagai nama, seperti pare, labu pahit, mentimun (Afrika), dan nyanya (Ghana). Pare digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit, seperti diare, kanker, dan hipertensi. Pare mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti cucurbitane triterpenoid, asam fenolik, flavonoid, lektin, sterol, saponin, dan protein. Flavanoid pada pare memiliki efek sebagai pengurangan stres oksidatif, menghambat inflamasi, mengurangi pengumpulan darah, dan vasodilatasi. Efek-efek ini dapat membantu mencegah penyakit kardiovaskuler (Khan *et al.*, 2021; Thomford *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

Pengobatan komplementer dan alternatif dibagi dalam tiga kategori: produk alami (herbal, vitamin, dan mineral serta probiotik), praktik pikiran dan tubuh (yoga, meditasi, dan lainnya), dan pendekatan kesehatan komplementer (praktik penyembuh tradisional, pengobatan tradisional Cina, homeopati, naturopati, dan pengobatan fungsional). Hasil studi menunjukkan 40% pasien menggunakan pengobatan komplementer dan alternatif untuk mengurangi gejala dan mengendalikan penyakit. Penggunaan metode terapeutik ini mungkin disebabkan oleh ketidakpuasan pasien terhadap hasil perawatan medis modern (Adib-Hajbaghery *et al.*, 2021). Ekstrak rosella dan pare memiliki efek hipoglikemik dan hipolipidemik. Pemberian ekstrak ini pada tikus putih model sindrom metabolik dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa dan meningkatkan kadar HDL (Kasimo *et al.*, 2022). Pepaya gunung dan pare adalah tanaman yang kaya akan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan. Senyawa-senyawa ini dapat membantu menurunkan kadar kolesterol, trigliserida, dan LDL-kolesterol, sehingga dapat membantu mencegah dan mengobati penyakit hiperlipidemia (Sasongko *et al.*, 2022).

Penelitian menggunakan hewan coba menunjukkan kombinasi ekstrak rosela dan pare dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa dan meningkatkan kadar HDL tikus putih model sindrom metabolik (Kasimo *et al.*, 2022). Ekstrak pare dapat menurunkan kadar LDL-C pada manusia dan menunjukkan nilai terapeutik potensial pada dislipidemia (Kinoshita & Ogata, 2018). Pengujian toksisitas bahan baku obat perlu dilakukan untuk mengetahui apakah bahan tersebut aman untuk digunakan. Pengujian ini dapat dilakukan pada berbagai jenis hewan coba untuk mengetahui efek toksik yang mungkin ditimbulkan oleh bahan obat tersebut. Pengujian toksisitas dilakukan untuk mengetahui

apakah suatu senyawa berbahaya bagi makhluk hidup. Pengujian ini umumnya dilakukan pada hewan percobaan, seperti ikan, larva nyamuk, dan larva udang. Kematian hewan percobaan menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki efek toksik (Pohan *et al.*, 2023). Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) digunakan untuk studi pendahuluan toksisitas senyawa kimia produk alami, logam berat, ion logam, sianobakteri, ganggang, bahan-bahan gigi, partikel nano, dan untuk menyaring produk alami laut. Tingkat molekuler, seluler, dan fisiologis *Artemia spp.* mengalami perubahan signifikan ketika terpapar dengan tingkat kontaminasi yang sedikit sehingga menjadi pendahuluan uji praklinis yang sangat baik untuk memperkirakan toksisitas umum, toksisitas akut jangka pendek (STA) dan kronis jangka panjang (LTC), serta dosis mematikan (Konan *et al.*, 2022). Metode uji larva udang *Artemia salina* Leach merupakan metode yang umum digunakan untuk mendeteksi toksisitas senyawa bioaktif. Metode ini memiliki tingkat akurasi yang tinggi dan dapat memberikan hasil yang cepat (Supardan, 2022).

Beberapa penelitian sebelumnya telah menggunakan metode BSLT untuk mengetahui toksisitas senyawa bioaktif dari tanaman. Uji ini dapat digunakan sebagai langkah awal untuk mengetahui apakah senyawa tersebut memiliki potensi sitotoksik (Waghulde *et al.*, 2020). Studi toksisitas akut dan sub-akut pada tikus menunjukkan ekstrak rosela tidak beracun dan dapat diklasifikasikan sebagai tingkat tanpa efek samping yang teramati (H. *et al.*, 2022). Ekstrak etanol pare tidak memiliki efek toksik pada tikus, bahkan pada dosis yang sangat tinggi. Ekstrak etanol pare tidak menyebabkan kematian, penurunan berat badan, atau perubahan fungsi hati pada tikus (Ratwita *et al.*, 2022). Penelitian ini untuk menguji toksisitas kombinasi ekstrak rosela dan pare. Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan untuk penelitian lanjut yang dapat menghasilkan sediaan obat herbal yang aman dan efektif sebagai pelengkap pengobatan primer.

METODE

Penelitian telah sesuai persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Institut Ilmu Kesehatan Strada Indonesia Nomor 3867/KEPK/VII/2023. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2023 di Laboratorium Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Kadiri. Penelitian ini terdiri dari tahap maserasi dan uji toksisitas dengan metode BSLT. Tahap Maserasi : persiapan awal bunga rosela dan pare yang meliputi tahap *size reduction* menggunakan blender dan *screening* menggunakan ayakan no 60. Lalu dilanjutkan dengan proses ekstraksi senyawa yang terkandung dalam bunga rosela dan pare. Serbuk bunga rosela sebanyak 250 gram dan pare sebanyak 81,8 gram. Masing-masing di masukkan ke dalam wadah kaca gelap kemudian ditambahkan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Pada metode maserasi perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1:5. Hasil ekstraksi dipisahkan dari ampas dengan menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dari pelarutnya menggunakan oven. Kemudian diperoleh ekstrak kental rosela dan pare. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilakukan uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp*

Lethality (BSLT) untuk mengetahui potensi toksisitas kombinasi ekstrak bunga rosela dan pare terhadap larva *Artemia salina* Leach (Djaeni *et al.*, 2017).

Uji Toksisitas metode BSLT: Telur Larva *Artemia salina* L sebanyak satu sendok spatula dimasukkan kedalam wadah yang berisi air laut selama 48 jam. Pengujian toksisitas kombinasi ekstrak rosela dan pare terhadap larva *Artemia salina* L dilakukan dengan menggunakan 5 konsentrasi, yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 200 ppm, 100 ppm, dan 50 ppm. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pada masing-masing konsentrasi. Pembuatan larutan induk dilakukan dengan mencampurkan 130 mg ekstrak rosela dan 70 mg ekstrak pare dengan DMSO 2% sebanyak 3-6 tetes dalam labu ukur 200 ml. Air laut ditambahkan hingga tanda batas, lalu dikocok hingga homogen, sehingga diperoleh larutan induk 1000 ppm.

Pembuatan konsentrasi 500 ppm dilakukan dengan mencampurkan 5 mL larutan induk 1000 ppm dengan 5 mL air laut. Konsentrasi 200 ppm dibuat dengan mencampurkan 2 mL larutan induk 1000 ppm dengan 8 mL air laut. Konsentrasi 100 ppm dibuat dengan mencampurkan 1 mL larutan induk 1000 ppm dengan 9 mL air laut. Konsentrasi 50 ppm dibuat dengan mencampurkan 0,5 mL larutan induk 1000 ppm dengan 9,5 mL air laut. Kemudian, 10 ekor larva *Artemia salina* L dimasukkan ke dalam botol vial tersebut.

Metode BSLT merupakan metode uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* L yang digunakan untuk menentukan nilai LC50. Nilai LC50 dianalisis menggunakan analisa probit dan dihitung log konsentrasinya. Senyawa dengan nilai LC50 kurang dari 1000 ppm dapat digunakan sebagai skrining awal senyawa bioaktif.

HASIL

Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT dapat dilihat hasilnya pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji toksisitas metode *brine shrimp lethality test*

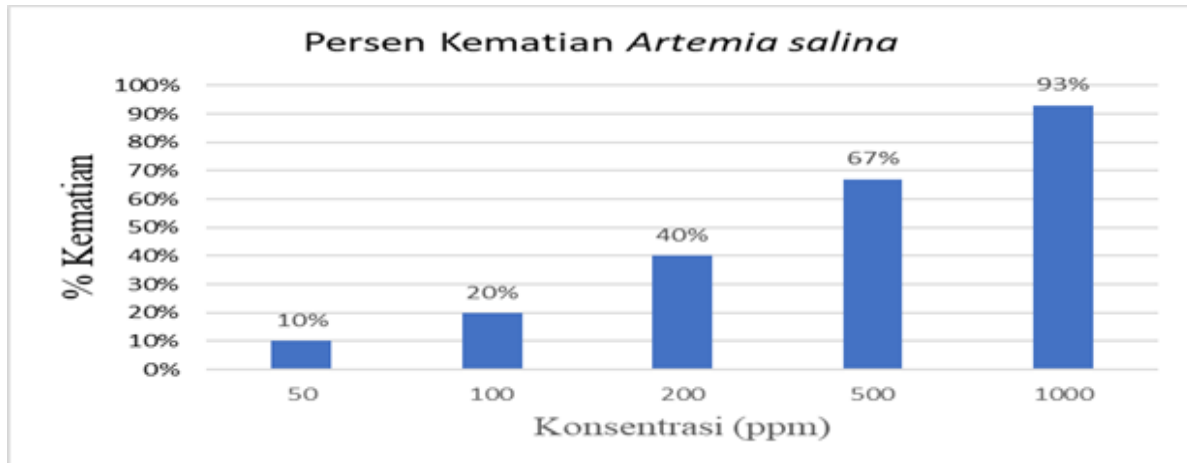
| Konsentrasi (ppm) | Σ Larva Uji | Σ Larva Mati | | | Σ | % Kematian | Log Konsentrasi (x) | Nilai Probit (y) | LC ₅₀ |
|-------------------|--------------------|---------------------|----|----|----------|------------|---------------------|------------------|------------------|
| | | R1 | R2 | R3 | | | | | |
| 50 | 10 | 1 | 1 | 1 | 3 | 10% | 1,698970004 | 3,72 | 241,8 ppm |
| 100 | 10 | 2 | 2 | 2 | 6 | 20% | 2 | 4,16 | |
| 200 | 10 | 4 | 4 | 4 | 12 | 40% | 2,301029996 | 4,75 | |
| 500 | 10 | 6 | 6 | 8 | 20 | 67% | 2,698970004 | 5,44 | |
| 1000 | 10 | 10 | 9 | 9 | 28 | 93% | 3 | 6,48 | |

Ket : R1 : Replikasi 1
R2 : Replikasi 2
R3 : Replikasi 3

Penelitian ini dilakukan pada kombinasi Ekstrak *Hibiscus sabdariffa* L dan *Momordica charantia* terhadap larva *Artemia salina* Leach. Ekstrak rosela dan pare diujikan dengan konsentrasi 50, 100, 200, 500, dan 1000 ppm. Air laut digunakan sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mortalitas larva *Artemia salina* Leach meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak

rosela dan pare. Berdasarkan Tabel 1, dapat disimpulkan bahwa mortalitas larva udang ekstrak kombinasi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Pada konsentrasi 50 ppm, mortalitas larva udang sebesar 10%, meningkat menjadi 20% pada konsentrasi 100 ppm, 40% pada konsentrasi 200 ppm, 67% pada konsentrasi 500 ppm, dan 93% pada konsentrasi 1000 ppm

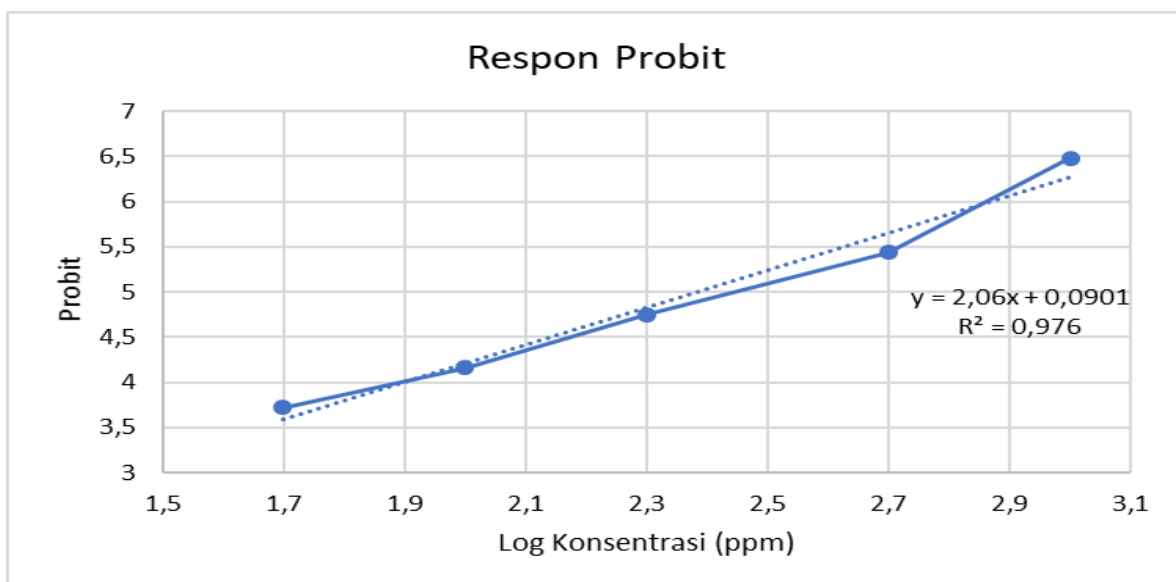
Angka Kematian Larva Artemia Salina



Gambar 1. Persen Kematian Hewan Uji

Persen kematian larva udang (*Artemia salina* L) setelah diberikan ekstrak kombinasi rosela dan pare pada konsentrasi 50 ppm yaitu 10%, konsentrasi 100 ppm yaitu 20%, konsentrasi 200 ppm yaitu 40%, konsentrasi 500 ppm yaitu 67% dan konsentrasi 1000 ppm yaitu 93%.

Respon Probit



Gambar 2. Respon Probit

Berdasarkan respon probit diperoleh persamaan regresi $y = 2,06x + 0,0901$. Dari persamaan regresi tersebut dapat dihitung nilai LC50. Nilai LC50 yang diperoleh sebesar 241,8 ppm

BAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui seberapa beracun kombinasi ekstrak rosela dan pare. Sampel yang digunakan adalah kombinasi ekstrak tersebut yang diperoleh dari penelitian (Kasimo *et al.*, 2022) sebelumnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak tersebut memiliki nilai LC50 sebesar 241,8 ppm. Uji toksisitas larva udang (BSLT) adalah tes awal untuk mengetahui apakah suatu senyawa memiliki aktivitas biologis atau potensi sebagai obat (Fauziah *et al.*, 2022). Uji ini digunakan karena sifatnya yang sederhana, murah, dan mudah sehingga memudahkan penilaian toksisitas dari ekstrak produk alami, senyawa organik murni dan sintetis. Banyak peneliti telah merekomendasikan pengujian toksisitas tanaman dan makroalga dengan uji BSLT (War Naw *et al.*, 2020). Toksisitas kombinasi ekstrak rosela dan pare ditentukan dengan uji toksisitas metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Nilai toksisitas yang diperoleh dalam penelitian ini dinyatakan sebagai LC50. Nilai LC50 ditentukan melalui analisis probit. Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui efek toksik dari pemberian suatu zat dalam waktu 24 jam.

Bunga rosela dan pare memiliki kandungan senyawa kimia yang beragam, termasuk asam fenolat, tannin, flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan steroid (Kasimo *et al.*, 2022). Senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam rosela dan pare diduga menyebabkan kematian larva udang. Mekanismenya diperkirakan bahwa kandungan senyawa asam fenolat, tannin, flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan steroid dalam ekstrak tersebut dapat menghambat daya makan larva (*antifeedant*) dengan cara bertindak sebagai racun perut. Senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva menyebabkan gangguan pada organ pencernaan (Mastura *et al.*, 2022). Senyawa asam fenolat, tannin, flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan steroid dalam bunga rosela dan pare diduga dapat menghambat pertumbuhan larva udang. Mekanismenya adalah dengan menghambat transduksi sinyal dalam nukleus, yang berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan sel. Hal ini terjadi karena senyawa asam fenolat, tannin, flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida, dan steroid menghambat protein kinase, yang berperan dalam transduksi sinyal. Selain itu, senyawa saponin dalam ekstrak tersebut juga dapat menghambat pertumbuhan larva udang. Saponin bekerja dengan mendorong penghentian siklus sel dan apoptosis sel. Hal ini menyebabkan sel-sel larva berhenti membelah dan mati. Jika senyawa-senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva, maka sistem pencernaannya akan rusak. Hal ini disebabkan karena senyawa-senyawa tersebut dapat mengganggu kerja enzim pencernaan. Senyawa-senyawa tersebut juga dapat mengganggu reseptor rasa pada mulut larva. Hal ini menyebabkan larva tidak mampu mengenali makanan, sehingga larva akan mati karena kelaparan (Putri *et al.*, 2021).

Penelitian (Njinga *et al.*, 2020) Ekstrak rosela memiliki beberapa efek toksik dalam jangka panjang. Selain itu, ekstrak juga memiliki aktivitas diuretik yang signifikan. Oleh karena itu, konsumsi ekstrak secara oral dalam jangka panjang mungkin tidak disarankan. Penelitian (Purbowati, M, Sitoresmi *et al.*, 2015) Ekstrak etanol 70% bunga rosela memiliki LC50 kurang dari 1000 µg/mL, yaitu sebesar 510,613 µg/mL. Hal ini disebabkan oleh senyawa saponin dan alkaloid yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Ekstrak etanol 70% mengandung alkaloid lebih banyak dibandingkan etil asetat.

Penelitian (Perumal *et al.*, 2022) ekstrak etanol 80% pare menunjukkan bahwa ekstrak buah pare dapat menyebabkan kematian dan penetasan yang tertunda pada larva udang. Beberapa kelainan bentuk yang diamati antara lain hiperaktif, tulang punggung bengkok, pigmentasi berkurang, dan koagulasi. Analisis kromatografi menunjukkan bahwa ekstrak buah pare mengandung asam propanoat, asam malat, kontrunkulin-A, glutamin, D-fruktosa, sorbopyranose, xylitol, asam galaktinik, D-manitol, dan mannose. Senyawa-senyawa ini dapat berkontribusi pada kelainan bentuk yang diamati dengan cara yang bergantung pada konsentrasi. Oleh karena itu, buah pare harus dikonsumsi dengan hati-hati dan dalam jumlah yang disarankan.

Buah rosela dan pare memiliki manfaat kesehatan dan dapat dikonsumsi sebagai makanan tambahan. Namun, buah rosela dan pare dapat menjadi toksik jika dikonsumsi dalam jumlah yang berlebihan atau dengan konsentrasi yang tinggi. Oleh karena itu, buah pare harus dikonsumsi sesuai anjuran untuk menghindari efek samping yang mungkin terjadi. Pengawasan terhadap konsumsi tanaman herbal perlu ditingkatkan oleh berbagai pemangku kepentingan, mulai dari regulator hingga pengguna obat. Penelitian ini masih dilakukan pada hewan coba, sehingga diperlukan penelitian lanjutan pada manusia untuk memperoleh produk herbal fitofarmaka.

SIMPULAN DAN SARAN

Kombinasi ekstrak rosela (*Hibiscus sabdariffa L*) dan pare (*Momordica charantia*) berpotensi toksik terhadap larva udang (*Artemia salina Leach*). Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian 50% larva udang adalah 241,8 ppm. Pada penelitian ini, toksisitas rosela dan pare dikategorikan sedang, hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode uji toksisitas dan pelarut yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada tim LP3M Universitas Kadiri karena telah memfasilitasi peneliti untuk memperoleh hibah RISTEKDIKTI Tahun 2023 dan juga tim laboratorium Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Kadiri dalam penyelesaian penelitian ini.

RUJUKAN

- Adib-Hajbaghery, M., Fattahi Ardakani, M., Sotoudeh, A., & Asadian, A. (2021). Prevalence of complementary and Alternative Medicine (Cam) among Diabetic Patients in Eastern Mediterranean Country Members of the World Health Organization (WHO): A review. *Journal of Herbal Medicine*, 29(May), 100476. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2021.100476>.
- Bule, M., Albelbeisi, A. H., Nikfar, S., Amini, M., & Abdollahi, M. (2020). The Antidiabetic and Antilipidemic Effects of Hibiscus Sabdariffa: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Food Research International*, 130(November 2019), 108980. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.108980>.
- Djaeni, M., Ariani, N., Hidayat, R., & Utari, F. D. (2017). Ekstraksi Antosianin dari Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Berbantu Ultrasonik: Tinjauan Aktivitas Antioksidan Ultrasonic

- Aided Anthocyanin Extraction of Hibiscus sabdariffa L. Flower Petal: Antioxidant Activity. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(3), 71. <https://doi.org/10.17728/jatp.236>.
- Fauziah, F., Maulinasari, Harnelly, E., Ismail, Y. S., & Fitri, L. (2022). Toxicity Test of Rose Periwinkle (*Catharanthus Roseus*) Leaves Endophytic Bacteria Using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. *Biodiversitas*, 23(1), 171–177. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230122>.
- H., H., M., S., & H., H. (2022). Acute and Sub-Acute Toxicity Studies of Roselle Leaves. *Food Research*, 6(Supplementary 2), 1–8. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(s2\).011](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(s2).011).
- Kasimo, E. R., Savitri, L., Bin, M., Kadir, A., Alimansur, M., & Antoro, E. L. (2022). Potensi Kombinasi Pemberian Ekstrak Rosella dan Pare Menurunkan Kadar Glukosa Darah dan Meningkatkan Kolesterol-HDL pada Tikus Model Sindrom Metabolik. *15*(2), 132–141.
- Khan, J., Deb, P. K., Priya, S., Medina, K. D., Devi, R., Walode, S. G., & Rudrapal, M. (2021). Dietary Flavonoids: Cardioprotective Potential With Antioxidant Effects and Their Pharmacokinetic, Toxicological, and Therapeutic Concerns. *Molecules*, 26(13), 1–24. <https://doi.org/10.3390/molecules26134021>.
- Kinoshita, H., & Ogata, Y. (2018). Effect of Bitter Melon Extracts on Lipid Levels in Japanese Subjects: A Randomized Controlled Study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, 15–20. <https://doi.org/10.1155/2018/4915784>.
- Konan, A. M. L., Golly, K. J., Kra, A. K. M., Adima, A. A., & Lohoues, E. E. C. (2022). Phytochemical Screening and Toxicity Assessment of <i>Imperata cylindrica</i> (L.) P. Beauv. (Poaceae) Raw Extracts with Brine Shrimp (<i>Artemia salina</i>) Lethality Assay. *Journal of Biosciences and Medicines*, 10(08), 153–171. <https://doi.org/10.4236/jbm.2022.108014>.
- Mastura, M., Mauliza, M., & Hasby, H. (2022). Toxicity Test of Acehnese Plants using The Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Method. *EduChemia (Jurnal Kimia Dan Pendidikan)*, 7(1), 110. <https://doi.org/10.30870/educhemia.v7i1.12341>.
- Njinga, N. S., Kola-Mustapha, A. T., Quadri, A. L., Atolani, O., Ayanniyi, R. O., Buhari, M. O., Amusa, T. O., Ajani, E. O., Folaranmi, O. O., Bakare-Odunola, M. T., Kambizi, L., Oladiji, A. T., & Ebong, P. (2020). Toxicity Assessment of Sub-Acute and Sub-Chronic Oral Administration and Diuretic Potential of Aqueous Extract of Hibiscus Sabdariffa Calyces. *Heliyon*, 6(9), e04853. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04853>.
- Perumal, V., Khatib, A., Ahmed, Q. U., Uzir, B. F., Murugesu, S., Primaharinastiti, R., El-Seedi, H., & Selamat, J. (2022). Toxicity and Teratogenicity Evaluation of Ethanolic Extract From *Momordica Charantia* Fruit Using Zebrafish (*Danio Rerio*) Embryo Model. *International Food Research Journal*, 29(3), 531–539. <https://doi.org/10.47836/ifrj.29.3.06>.
- Pohan, D. J., Marantuan, R. S., & Djojaputro, M. (2023). Toxicity Test of Strong Drug using the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) Method. *International Journal of Health Sciences and Research*, 13(2), 203–209. <https://doi.org/10.52403/ijhsr.20230228>.
- Purbowati, M., Sitoresmi, I., Syamsu, K., Warsiki, E., & Sri Rukmini, H. (2015). Evaluasi Toksisitas, Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Komponen Bioaktif Rosela dengan Variasi Jenis Pelarut. *J Tek Ind Pert*, 25(2), 182–189. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jurnaltin/article/view/10863>.
- Putri, R. B., Nugrahaningsih, W., & Dewi, N. K. (2021). Uji Toksisitas Ekstrak Daun Cassava terhadap Larva *Artemia Salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 44(2), 86–91. <https://doi.org/10.15294/ijmns.v44i2.33145>.

- Ratwita, W., Ambarukmi, F., & Iyatunafsy Syifa, A. (2022). Subchronic Toxicity Test of Extract Peria Fruit (*Momordica charantia* L) on Wistar Rats Total Cholesterol (Uji Toksisitas Subkronik Ekstrak Peria (*Momordica charantia* L) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Wistar). *Journal of Health and Dental Sciences*, 1(Volume 1 No 3), 233–246. <https://doi.org/10.54052/jhds.v1n3.p233-246>.
- Sarbini, D. W. I., Huriyati, E. M. Y., Sadewa, H., & Wahyuningsih, M. S. H. (2019). The Effect of Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* Linn) in Insulin Resistance In Patients With Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Clinical Trial. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 11, 547–557.
- Sasongko, H., Lestari, R. G., Indasari, R. D., & Wulandari, R. D. (2022). The Hypolipidemic Effect of Mountain Papaya and Bitter Melon Fruit Ethanolic Extract in Diabetic Rats. *07(03)*, 1–13. <https://doi.org/10.22146/jtbb.75349>.
- Supardan, A. D. (2022). Uji Toksisitas Hasil Fraksinasi Kolom Kromatografi Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). *Jurnal Sains Terapan*, 12(1), 32–42. <https://doi.org/10.29244/jstsv.12.1.32-42>.
- Thomford, K. P., Thomford, A. K., Yorke, J., Yeboah, R., & Appiah, A. A. (2021). *Momordica Charantia* l. for Hyperlipidemia: A Randomized Controlled Assessment of the Ghanaian Herbal Medicinal Product MCP-1. *Journal of Herbal Medicine*, 28(March), 100453. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2021.100453>.
- Waghulde, S., Kale, M. K., & Patil, V. (2020). Brine Shrimp Lethality Assay of the Aqueous and Ethanolic Extracts of the Selected Species of Medicinal Plants. *2*, 47. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-23-06703>.
- War Naw, S., Darli Kyaw Zaw, N., Siti Aminah, N., Amin Alamsjah, M., Novi Kristanti, A., Nege, A. S., & Thanda Aung, H. (2020). Bioactivities, Heavy Metal Contents, and Toxicity Effect of Macroalgae from Two Sites in Madura, Indonesia. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19(8), 528–537. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2020.09.007>.
- Wu, S., Huang, C., Chen, Y. R., Huang, H. C., Huang, W. C., & Lai, Y. H. (2021). *Momordica Charantia* Leaf Extract Reduces Hepatic Lipid Accumulation and Diet-Induced Dyslipidemia in Zebrafish Through Lipogenesis and Beta-Oxidation. *Journal of Functional Foods*, 87, 104857. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104857>