

Uji Sitotoksik Ekstrak Alkaloid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Larva Udang (*Artemia salina*)

Mariani, Kholifatu Rosyidah*, Kamilia Mustikasari

Program Studi S-1 Kimia FMIPA Universitas Lambung Mangkurat
Jl. Ahmad Yani Km. 35,8 Banjarbaru 70714 Kalimantan Selatan

*e-mail korespondensi : krosyidah@ulm.ac.id

Submitted: 26 November 2021; Accepted: 27 November 2021

ABSTRACT—Research on cytotoxic test of alkaloids extract of belimbing wuluh leaves has been conducted. The objective of this research are to determine the yield, toxicity, TLC chromatogram pattern, and compounds in alkaloids extract of belimbing wuluh leaves with GC-MS. Alkaloid extraction process uses acid base method, the phytochemical tests was carried out with reagents Dragendorff, Wagner and Meyer. Toxicity test of alkaloids extract of belimbing wuluh leaves with BSLT method on *A. salina* larvae to determine LC₅₀ value. Alkaloids extract of belimbing wuluh leaves were analyzed by TLC and GC-MS. The yield of alkaloids extract of belimbing wuluh leaves obtained was 10, 13 %. The results of phytochemical tests were carried out which showed positive containing alkaloids. LC₅₀ value of the alkaloids extract of belimbing wuluh leaves indicated that is very toxic. The LC₅₀ value obtained is 9.170 ppm. Analysis using TLC with eluent of *n*-hexane: ethyl acetate (8:2) showed 5 stains. GC-MS analysis showed are alkaloid compound with an odd molecular weight.

KEYWORD : *Averrhoa bilimbi* L.; BSLT; alkaloid; GC-MS

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang begitu banyak. Kondisi geografis serta iklim yang tropis mengakibatkan hujan selalu turun sepanjang tahun di Indonesia. Inilah yang membuat tanah di Indonesia sangat subur dan dapat ditumbuhi berbagai jenis tanaman obat. Tanaman belimbing wuluh merupakan salah satu jenis tanaman obat yang memiliki banyak manfaat dan dapat tumbuh di berbagai jenis tanah. Tanaman belimbing wuluh sering dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan obat herbal tradisional.

Tidak hanya diyakini berkhasiat sebagai obat herbal tradisional, daun belimbing wuluh juga teruji khasiatnya secara ilmiah. Hal ini terlihat dari banyaknya penelitian terhadap bioaktivitas dari ekstrak daun belimbing wuluh. Ekstrak etanol daun belimbing wuluh aktif sebagai antibakteri *S. dysenteriae* dengan zona hambat ±14,47 mm (Panjaitan *et al.*, 2017), *S. aureus* dengan zona hambat 13,13 mm dan *E. coli* dengan zona hambat 8,69 mm (Pendit *et al.*, 2016). Fraksi etil asetat daun belimbing wuluh juga aktif sebagai antibakteri *S. aureus* dengan zona hambat 10–20 mm (Aryantini *et al.*, 2017). Sari & Suryani (2014) melaporkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh aktif sebagai anti jamur pada zona hambat tertinggi yaitu 24,60 mm. Ekstrak daun belimbing wuluh juga aktif sebagai anti hipertensi pada dosis 105,03 mg/100 gram BB tikus putih (Mulyani, 2015) dan aktif sebagai anti diabetes pada dosis 250 mg/kg BB mencit putih yang dilakukan secara *in vitro* (Putra *et al.*, 2017).

Uji fitokimia ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun belimbing wuluh menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Aryantini *et al.*, 2017). Hasil penelitian sebelumnya tentang uji sitotoksik ekstrak alkaloid pada daun tanaman obat menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki sifat racun terhadap larva udang (*A. salina*). Diantaranya yaitu ekstrak alkaloid daun tampuyung bersifat sedikit toksik terhadap larva udang (Murtadlo *et al.*, 2013), ekstrak alkaloid daun binahong bersifat toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 85,58 ppm (Titis *et al.*, 2013), ekstrak alkaloid daun mindi bersifat sangat toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 21,27 ppm (Fitriyani *et al.*, 2016), dan ekstrak alkaloid daun

johar menunjukkan sangat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 18,38 ppm (Anggia *et al.*, 2016). Berdasarkan aktivitas sitotoksik ekstrak alkaloid daun tanaman obat pada penelitian sebelumnya, maka penelitian tentang uji sitotoksik ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh perlu dilakukan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, alat maserasi, pH meter, *rotary evaporator*, neraca analitik O'haus, termometer, cawan petri, *blender*, kertas saring, tabung reaksi, botol semprot, botol vial, kaca pembesar, aerator dan GC-MS. Adapun bahan-bahan yang digunakan adalah serbuk daun belimbing wuluh, *n*-heksana teknis, metanol teknis, HCl 2 M, etil asetat teknis, NH_4OH 2M, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, pereaksi Meyer, akuades, garam grosok, plat KLT dan telur *A. salina*.

A. Ekstraksi Alkaloid Daun Belimbing Wuluh

Ekstraksi alkaloid daun belimbing wuluh mengacu pada prosedur dari penelitian yang dilakukan oleh Titis *et al.*, (2013) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 615 g serbuk daun belimbing wuluh yang telah dihaluskan dan dikeringkan, dimaserasi dengan pelarut *n*-heksana ± 4 L selama 2×24 jam hingga ekstrak jernih. Selanjutnya disaring dan ampas dikeringkan. Ampas yang telah kering dimaserasi kembali dengan pelarut metanol ± 6 L selama 3×24 jam hingga ekstrak jernih. Kemudian ekstrak metanol diuapkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* yang dijaga suhunya antara $40-50^\circ C$. Kemudian dihitung berat dan rendemen ekstrak metanol.

Sebanyak 39,47 g ekstrak metanol dilarutkan ke dalam 100 mL metanol. Kemudian ditambahkan dengan HCl 2M hingga pH 3. Larutan yang bersifat asam ini kemudian diekstraksi dengan 2×100 mL etil asetat. Sebelum melakukan pemisahan fraksi metanol ditambahkan dengan 100 mL akuades agar pemisahan dapat terlihat dengan jelas. Hasil ekstraksi akan terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan etil asetat dan lapisan asam. Lapisan asam akan berada di bawah yang mengandung pelarut metanol-air sedangkan pada lapisan etil asetat akan berada di atas. Lapisan asam dipisahkan dan ditambahkan dengan NH_4OH 2M hingga pH 9. Selanjutnya diekstraksi kembali dengan 2×100 mL etil asetat. Hasil ekstraksi akan terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan basa dan lapisan etil asetat. Lapisan etil asetat yang berada di atas dipisahkan. Pelarut etil asetat diuapkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dijaga suhunya antara $40-50^\circ C$. Kemudian dihitung berat dan rendemen ekstrak alkaloid.

B. Uji Fitokimia Alkaloid Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Sebanyak 3 tabung reaksi disiapkan dan dimasukkan masing-masing 1 mL ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh pada tiap tabung reaksi. Sebanyak 1 mL pereaksi Dragendorff, Meyers, dan Wagner masing-masing ditambahkan pada tabung reaksi. Hasil endapan yang terbentuk diamati, akan terbentuk endapan kuning kejinggaan untuk pereaksi Dragendorff, terbentuk endapan putih untuk pereaksi Meyers dan terbentuk endapan coklat untuk pereaksi Wagner.

C. Uji Sitotoksik Ekstrak Alkaloid Daun Belimbing Wuluh

Telur *A. salina* direndam di dalam air laut buatan yang dilengkapi dengan aerator selama 1×24 jam. Air laut buatan yang digunakan dibuat dari 20 g garam grosok ke dalam 1 L akuades. Sehingga diperoleh konsentrasi air laut buatan sebesar 20%. Dilakukan uji dengan mengambil masing-masing sebesar 20 mg ekstrak alkaloid total yang dilarutkan dalam 10 mL air laut buatan sehingga diperoleh larutan induk 2000 ppm. Ekstrak diencerkan menjadi 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, dan 640 ppm dalam 10 mL labu takar ditambahkan air laut buatan hingga tanda batas. Larutan kontrol negatif berisi air laut buatan tanpa ditambahkan ekstrak alkaloid. Kemudian ditambahkan sebanyak 20 ekor larva udang pada setiap botol vial ekstrak alkaloid dan kontrol negatif. Diamati jumlah larva udang yang mati selama 24 jam, dilakukan 3 kali pengulangan dan dihitung persen kematian larva udang. Serta dilakukan analisis probit untuk menentukan aktifitas LC_{50} .

D. Analisis KLT Ekstrak Alkaloid Daun Belimbing Wuluh

Ekstrak alkaloid dilakukan analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan fase gerak berupa eluen *n*-heksana: etil asetat (8:2) dan fase diam berupa plat silika gel 60GF₂₅₄ sehingga diperoleh pola noda yang beragam. Kemudian plat KLT disemprot dengan pereaksi Dragendorff.

E. Analisis GC-MS Ekstrak Alkaloid Daun Belimbing Wuluh

Sebanyak 1 µL ekstrak alkaloid disuntikkan pada sistem GC-MS. GC-MS Shimadzu QP 2010: jenis kolom RTX-5MS dengan panjang 30 m, diameter 0,23 mm dan ketebalan 0,25 µm. Suhu oven diprogram 50–300°C dengan laju kenaikan suhu 5°C/menit. Gas pembawa yaitu helium, bertekanan 13,7 kPa, total laju 28 mL/menit dan *split ratio* sebesar 49,0. Kromatogram sampel kemudian dibandingkan dengan data pada *library* untuk menentukan senyawa pembandingnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada prosedur penelitian ekstraksi alkaloid sebanyak 615 g serbuk daun belimbing wuluh dimaserasi menggunakan pelarut *n*-heksana ±4 L yang dilakukan selama 2x24 jam. Pelarut *n*-heksana ini digunakan untuk melarutkan klorofil dan senyawa non polar yang bukan merupakan senyawa alkaloid. Selanjutnya ampas hasil maserasi dikeringkan dan dimaserasi kembali menggunakan metanol ±6 L yang dilakukan selama 3x24 jam. Maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator* suhu antara 40–50°C. Ekstrak metanol kemudian ditimbang dan diperoleh sebesar 39,47 g, sehingga diperoleh rendemen sebesar 6,49%-b/b.

Sebanyak 39,47 g ekstrak metanol dilarutkan ke dalam 100 mL metanol dan ditambahkan HCl 2M hingga pH 3. Kemudian diekstraksi dengan etil asetat 2x100 mL. Pada proses ini pemisahan yang terjadi tidak terlalu terlihat karena perbedaan densitas antara metanol dengan etil asetat tidak berbeda jauh. Sehingga perlu ditambahkan 100 mL akuades yang memiliki densitas yang cukup jauh dari etil asetat, yang nantinya metanol akan larut ke dalam akuades membentuk lapisan metanol-air. Penambahan HCl bertujuan agar suasana larutan menjadi asam yang membuat alkaloid akan mudah membentuk garam alkaloid yang mudah larut dalam pelarut polar. Garam alkaloid ini ketika diekstraksi dengan etil asetat akan membentuk dua lapisan, yaitu lapisan atas adalah etil asetat yang mengikat senyawa-senyawa semi polar yang bukan merupakan garam alkaloid dan lapisan bawah yang merupakan lapisan asam atau lapisan metanol-air yang mengikat garam alkaloid.

Selanjutnya lapisan asam tersebut dipisahkan dan ditambahkan dengan NH₄OH 2M hingga pH 9 dan diekstraksi lagi dengan 2x100 mL etil asetat. Penambahan suatu basa bertujuan untuk membuat kondisi larutan yang diekstraksi menjadi basa. Hal ini dilakukan agar garam alkaloid yang terdapat pada lapisan asam akan membentuk alkaloid bebas yang mudah larut dalam pelarut semi polar yaitu etil asetat. Hasil proses ekstraksi akan membentuk dua lapisan yaitu lapisan bawah adalah lapisan metanol-air yang tidak mengandung alkaloid bebas dan lapisan atas adalah etil asetat yang mengandung alkaloid bebas. Selanjutnya lapisan atas dipisahkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu antara 40–50°C. Ekstrak alkaloid kemudian ditimbang dan diperoleh sebesar 4 gram, sehingga diperoleh rendemen ekstrak alkaloid sebesar 10, 13%-b/b.

Data pengujian alkaloid terhadap ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh terdapat pada Tabel 1. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh (+) mengandung alkaloid.

Ekstrak alkaloid yang diperoleh dilakukan uji BSLT dengan variasi konsentrasi 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 ppm yang dimasukkan masing-masing 20 ekor larva udang dan pengujian dilakukan 3 kali. Hasil uji sitotoksik ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh terdapat pada Tabel 2.

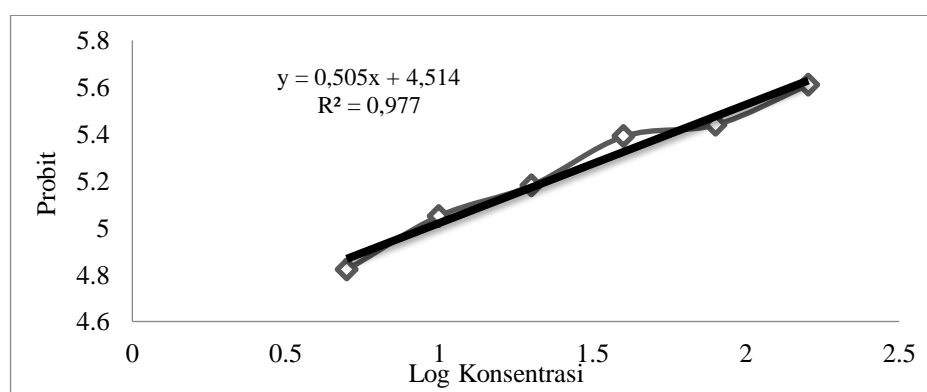
Tabel 1 Hasil uji alkaloid ekstrak daun belimbing wuluh

No	Uji Fitokimia	Hasil
1	Pereaksi Dragendorff	(+) terdapat endapan jingga
2	Pereaksi Mayers	(+) terdapat endapan putih
3	Pereaksi Wagner	(+) terdapat endapan coklat

Tabel 2 Hasil uji sitotoksik ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh

Konsentrasi (ppm)	Ulangan			Rata-Rata Kematian	% Kematian	Log Konsentrasi (ppm)	Probit
	I	II	III				
	Mati	Mati	Mati				
5	10	9	9	9,33	47	0,69	4,82
10	10	11	10	10,33	52	1,00	5,05
20	12	11	11	11,33	57	1,30	5,18
40	13	13	13	13,00	65	1,60	5,39
80	13	13	14	13,33	67	1,90	5,44
160	15	14	15	14,67	73	2,20	5,61
320	20	20	20	20,00	100	2,50	-
640	20	20	20	20,00	100	2,81	-
Kontrol	0	-	-	-	-	-	-

Dibuat grafik hubungan antara Log konsentrasi terhadap probit untuk mendapatkan nilai regresi linier yang digunakan untuk menentukan nilai LC_{50} ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh. Grafik tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.

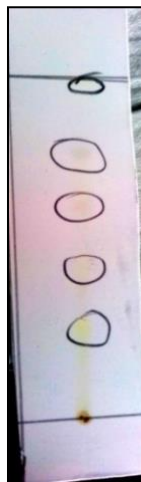
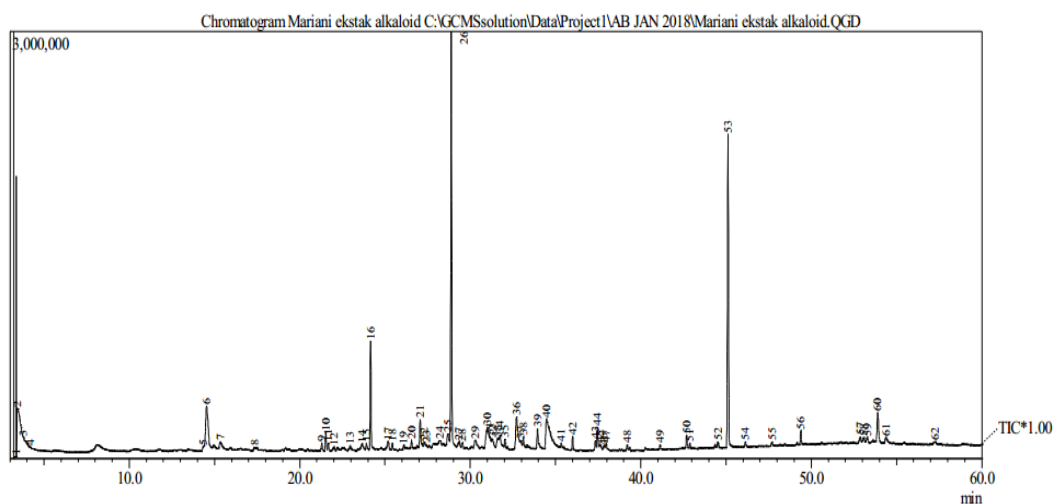


Gambar 1. Grafik Hubungan antara Log Konsentrasi dengan Probit

Dari nilai regresi yang diperoleh kemudian dihitung aktivitas LC_{50} , sehingga diperoleh nilai LC_{50} ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh sebesar 9,170 ppm. Nilai LC_{50} ini menunjukkan bahwa ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh bersifat sangat toksik dan dapat diujikan lebih lanjut terhadap sel kanker secara *in vitro*.

Ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh kemudian dianalisis dengan KLT terhadap eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2). Terdapat 5 noda dari kromatogram tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan adanya 5 senyawa/kelompok alkaloid yang berbeda. Hasil kromatogram KLT terdapat pada Gambar 2.

Selanjutnya ekstrak alkaloid dianalisis dengan GC-MS untuk mengetahui kandungan senyawa didalamnya. Kromatogram GC-MS terdapat pada Gambar 3. Kromatogram tersebut menunjukkan adanya 62 puncak. Banyaknya komponen yang terkandung dalam ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh ini menunjukkan bahwa belum sepenuhnya proses ekstraksi alkaloid yang mengakibatkan ekstrak tersebut belum murni senyawa alkaloid.

Gambar 2. Kromatogram KLT eluen *n*-heksana:etil asetat (8:2)

Gambar 3. Kromatogram GC-MS Ekstrak Alkaloid Daun Belimbing Wuluh

Puncak-puncak yang didapatkan dari hasil analisis GC dikelompokkan berdasarkan berat molekul ganjil yang dapat dilihat dari hasil analisis MS. Senyawa yang memiliki berat molekul ganjil kemungkinan adalah senyawa alkaloid. Menurut Kosela (2013) menyatakan bahwa berdasarkan aturan atom nitrogen yang keberadaannya ganjil (1,3,5 dan seterusnya) dalam suatu senyawa maka akan menghasilkan berat molekul yang ganjil terhadap senyawa tersebut. Dalam senyawa alkaloid atom nitrogen biasanya berjumlah ganjil antara 1 atau 3. Sehingga ada kemungkinan bahwa senyawa dengan berat molekul ganjil dari hasil GC-MS merupakan senyawa alkaloid. Kelompok senyawa dengan berat molekul ganjil dapat dilihat pada Tabel 3.

Puncak dengan nilai SI>90 kemungkinan memiliki struktur senyawa yang hampir mirip dengan senyawa pembanding. Kemudian dari senyawa pembanding yang dihasilkan selanjutnya dicari struktur senyawa yang kemungkinan adalah senyawa alkaloid dengan cara menambahkan atom nitrogen pada struktur dan sambil melihat kesesuaian berat molekul yang dimiliki dari puncak hasil analisis. Salah satu puncak yang memiliki nilai SI besar yaitu pada puncak 44 dengan berat molekul 265.

Tabel 3. Kelompok senyawa dengan berat molekul ganji

Puncak	Waktu retensi	% Area	BM Sampel	SI (Similarity Index)	Nama Senyawa Pemanding pada MS	BM Pemanding
2	3,442	13,43	91	84	2,3-pentanadion	100
7	15,343	0,57	471	81	Xantosin	284
11	21,676	0,37	471	78	1,3-benzodioxol	154
12	21,987	0,22	275	75	Etanol	188
17	25,152	0,63	267	80	Etanol	180
20	26,551	0,40	357	84	1-oktadekuna	250
22	27,294	0,39	421	73	7-oksabisiklo [4.1.0]heptana	168
25	28,675	0,79	441	77	1-heptanol	158
30	31,005	2,52	209	84	Benzofuran	196
40	34,461	5,19	213	86	Oktadekasenol	268
44	37,459	1,12	265	92	Asam 11-oktadekanoat	296
46	37,800	0,31	481	73	Sikloheksanol	156
48	39,211	0,32	491	82	Asam heptadekanoat	298
50	42,692	0,72	259	92	Asam heksadekanoat	370
51	42,870	0,32	397	87	Pentadekana	212
52	44,519	0,32	267	87	1-oktanol	186
53	45,117	14,36	279	92	Di-n-oktil ftalat	390
56	49,387	0,63	207	93	2,6,10,14,18,22-tetrakosaheksana	410
57	52,868	0,29	481	74	Asam dokosaheksaenoat	398

Spektrum massa pemanding pada puncak 44 merupakan senyawa Asam 11-oktadekanoat dengan berat molekul 296. Spektrum sampel pada puncak 44 menunjukkan senyawa tersebut memiliki berat molekul 265. Kemudian struktur senyawa pemanding tersebut diubah hingga terbentuk struktur alkaloid dengan berat molekul yang sesuai dengan hasil analisis. Struktur alkaloid dugaan tersebut adalah (*E*)-2-(tridek-6-ena-1-il)piperidina.

Pada puncak 56 juga memiliki nilai SI besar yaitu 93. Spektrum massa pada puncak 56 dan spektrum massa senyawa pemandingnya. Spektrum massa pemanding pada puncak 56 merupakan senyawa 2,6,10,14,18,22-tetrakosaheksana dengan berat molekul 410. Spektrum sampel pada puncak 56 menunjukkan senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 207. Kemudian struktur senyawa pemanding tersebut diubah hingga terbentuk struktur alkaloid dengan berat molekul yang sesuai dengan hasil analisis. Struktur alkaloid dugaan tersebut adalah (*E*)-2-(2,6-dimetilhepta-1,5-diena-1-il)piperidina.

Puncak hasil analisis GC-MS dengan BM ganjil yang memiliki % area besar yaitu pada puncak 2 dan 53. Spektrum Spektrum massa pemanding pada puncak 2 merupakan senyawa 2,3-pentanadion

dengan berat molekul 100. Spektrum sampel pada puncak 2 menunjukkan senyawa tersebut memiliki berat molekul 91. Kemudian struktur senyawa pembanding tersebut diubah hingga terbentuk struktur alkaloid dugaan dengan berat molekul yang sesuai dengan hasil analisis. Struktur alkaloid tersebut adalah *O*-asetil-*N*-hidroksihidroksilamina dan *N,N*-dihidroksiasetamida.

Spektrum massa pembanding pada puncak 53 merupakan senyawa Di-*n*-oktil ftalat dengan berat molekul 390. Spektrum sampel pada puncak 53 menunjukkan senyawa tersebut memiliki berat molekul 279. Kemudian struktur senyawa pembanding tersebut diubah hingga terbentuk struktur alkaloid dugaan dengan berat molekul yang sesuai dengan hasil analisis. Struktur alkaloid tersebut adalah 3-aminopropil butil ftalat.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah eendemen ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh yang diperoleh sebesar 10,13%-b/b. Ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh bersifat sangat toksik terhadap larva *Artemia salina* dengan nilai LC_{50} sebesar 9,170 ppm. Pola pemisahan dengan KLT dapat terpisah dengan baik menggunakan eluen campuran pelarut *n*-heksana:etil asetat (8:2) dengan adanya 5 noda. Hasil analisis menggunakan GC-MS terhadap ekstrak alkaloid daun belimbing wuluh diduga mengandung alkaloid dari hasil analisis dengan berat molekul ganjil, puncak dengan nilai $SI > 90$ yaitu puncak 44 adalah (*E*)-2-(tridek-6-ena-1-il) piperidina dan puncak 56 adalah (*E*)-2-(2,6-dimetilhepta-1,5-diena-1-il)piperidina, puncak dengan % area besar yaitu puncak 2 adalah *O*-asetil-*N*-hidroksihidroksilamina atau *N,N*-dihidroksiasetamida dan puncak 53 adalah 3-aminopropil butil ftalat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggia, I. S., Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2016). Isolasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid dari Daun Johar (*Senna siamea*). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 1(3), 157–163.
- Aryantini, D., Sari, F., & Juleha. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Terstandar Flavonoid dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Wiyata*, 4(2), 143–150.
- Fitriyani, Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2016). Isolasi, Identifikasi, dan Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid dari Daun Mindi (*Melia azedarach* L.). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 1(2), 33–40.
- Mulyani, S. (2015). Ekstrak Daun Belimbing Wuluh terhadap Penurunan Tekanan Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*) Hipertensi. *Jurnal Keperawatan Muhammadiyah*, 1(2), 177–184.
- Murtadlo, Y., Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2013). Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn) dan Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). *Chem Info Journal*, 1(1), 379–385.
- Panjaitan, R. S., Kadiwijati, L. R., Seto, D., & Hengky. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).
- Pendit, P. A. C. D., Zubaidah, E., & Sriherfyna, F. H. (2016). Karakteristik Fisik-Kimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 400–409.
- Putra, A. M. P., Aulia, D., & Wahyuni, A. (2017). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Alokstan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2), 263–269.
- Sari, M., & Suryani, C. (2014). Pengaruh Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Secara in Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajarannya*. Medan.
- Titis, M. B. M., Fachriyah, E., & Kusriani, D. (2013). Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis). *Chemistry Info Journal*, 1(1), 196–201.