

Artikel

Metabolit Sekunder dan Uji Bioaktivitas Sitotoksik Ekstrak Buah Sumpit (*Brucea javanica* (L.) Merr) terhadap *Artemia salina* Leach

Tajuddin Nur¹, Arman Rusman⁴, Baso Didik Hikmawan², Maria Almaida³, Herman Herman⁴, Arsyik Ibrahim^{2,*}

¹ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

² Laboratorium Riset dan Pengembangan Kefarmasian "FARMAKA TROPIS", Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

³ Bagian Biologi Farmasi Program Studi S1, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

⁴ Bagian Kimia Farmasi Program Studi S1, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

* Correspondence: arsyik@farmasi.unmul.ac.id; achie.ibrahim@gmail.com Tel.: (+62)81347912495 (A.I)

Abstract

Citation: Nur, T.; Hikmawan, B.D.; Almaida, M.; Herman, H.; Ibrahim, A., Metabolit Sekunder dan Uji Bioaktivitas Sitotoksik Ekstrak Buah Sumpit (*Brucea javanica* (L.) Merr) terhadap *Artemia salina* Leach. *J Riset Naturafarm* 2024, 1 (1), 22–30.
<https://doi.org/10.70392/368zcy93>

Academic Editor: Dr. Rolan Rusli

Received: 22 Maret 2024

Revised: 12 April 2024

Accepted: 15 Mei 2024

Publisher's Note: B-CRETA publisher stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2024 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike (CC-BY-NC-SA) 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

ISSN: 3048-0582

This research aims to identify secondary metabolite groups and test the bioactivity of chopstick fruit extract. Identification of secondary metabolites was carried out by testing Sumpit fruit extracts and fractions against reagents, while bioactivity testing was carried out using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. The data obtained was analyzed using the Reed and Muench method to obtain a Lethality Concentration value of 50% (LC₅₀). The research results showed that chopstick fruit extract contains secondary metabolites, namely alkaloids, carotenoids, saponins, tannins, phenolic compounds, steroids and terpenoids. The bioactivity test results of chopstick fruit had an LC₅₀ value, namely methanol extract 3.10 ppm, n-hexane fraction 2.09 ppm, ethyl acetate fraction 0.79 ppm, and n-butanol fraction 0.74 ppm.

Keywords: *Artemia salina*, Secondary Metabolites, *Brucea javanica* (L), Lethal Concentration-50

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan metabolit sekunder serta menguji bioaktivitas ekstrak buah sumpit. Identifikasi metabolit sekunder dilakukan dengan melakukan uji ekstrak dan fraksi buah Sumpit terhadap pereaksi, sedangkan uji bioaktivitas dilakukan dengan metode Brine *Shrimp Lethality Test* (BSLT). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode Reed and Muench untuk mendapatkan nilai Lethality Concentration 50 % (LC₅₀). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah sumpit mengandung golongan metabolit sekunder yaitu alkaloid, karotenoid, saponin, tanin, senyawa fenol, steroid, dan terpenoid. Hasil uji bioaktivitas Buah sumpit memiliki nilai LC₅₀ yaitu ekstrak metanol 3,10 ppm, fraksi n-heksana 2,09 ppm, fraksi etil asetat 0,79 ppm, dan fraksi n-butanol 0,74 ppm.

Kata Kunci: *Artemia salina*, metabolit sekunder, *Brucea javanica* (L), *Lethality Concentration-50*

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang terletak di garis katulistiwa dan membuat negara Indonesia memiliki iklim tropis, dengan kekayaan tumbuhan obat sebanyak 40.000 jenis keanekaragaman hayati flora [1], sekitar 7.500 spesies digunakan sebagai tanaman obat, dan 283 telah digunakan sebagai bahan baku industri obat tradisional [2]. Di sisi lain masih banyak tumbuhan obat potensial yang belum dimanfaatkan untuk pengembangan industri obat tradisional, sehingga diperlukan eksplorasi ilmiah sehingga dapat dimanfaatkan untuk bahan baku industri obat tradisional. Salah satu tumbuhan yang memiliki fungsi sebagai obat tradisional adalah tumbuhan buah sumpit (*Brucea javanica* (L.) Merr). Tumbuhan buah sumpit ini merupakan genus *Brucea*. Tanaman ini adalah jenis tanaman perdu yang sangat terkenal dibidang pengobatan herbal [3]. Tumbuhan *B. javanica* memiliki banyak nama lokal. Tanaman ini di berbagai daerah di Indonesia dikenal dengan nama "tanaman wali" [4], tanaman "tantaran gayung" [5], "tanaman makassar" "buah malur" [6]. Buah sumpit ini memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu tannin, terpenoid, alkaloid, dan saponin [7], senyawa quasinoid, alkaloid, triterpene, tanin dan steroid [8-11].

Berbagai jenis metabolit sekunder ini memiliki khasiat farmakologik sebagai antidiabetes, antimikroba, antiviral [12], antitumor, antikanker [13], anti inflamasi, analgesik dan insektisidal [14]. Daun sumpit berefek antijamur (*Candida albicans* dan *Malassezia furfur*) [15].

Secara empiris buah dan kulit batang tumbuhan sumpit (*B. javanica*) oleh masyarakat Kotabangun Kalimantan Timur digunakan sebagai obat diare, demam dan kencing manis. Namun, penelitian mengenai metabolit sekunder dari buah *B. javanica* asal Kotabangun Kalimantan Timur yang berefek sitotoksik belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder dan aktivitas sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dari buah Sumpit untuk memperoleh data ilmiah yang dapat digunakan untuk menunjang penelitian efek farmakologik yang diperluas.

2. BAHAN, ALAT, DAN PROSEDUR PENELITIAN

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah Sumpit (*B. javanica*), air aquades, air laut, Tween 80, pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer, asam sulfat pekat, asam asetat, kloroform, ferri klorida, kalium heksasianoferat (III), metanol, pita magnesium, asam klorida pekat, natrium klorida, natrium hidroksida, telur udang *Artemia salina* Leach, ragi, metanol, n-heksana, etil asetat, dan n-butanol.

2.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *Macerator*, *rotary evaporator* (Buchi), timbangan analitik (And gf 300), corong pisah, gelas kimia, tabung reaksi, penjepit tabung, pipet tetes, Erlenmeyer, oven (Memmert), water bath (Memmert), kertas saring, aluminium foil, batang pengaduk, botol vial, labu ukur, mikropipet, spatula, aerator dan lampu pijar, vial glass.

2.3. Prosedur

2.3.1. Penyiapan Sampel

1. Pengumpulan sampel buah Sumpit

Sampel segar buah Sumpit dikumpulkan dengan cara dipetik, dibersihkan pengotor, kemudian dibelah dua, selanjutnya dikeringkan menggunakan oven suhu 40°C.

2. Pembuatan Ekstrak Metanol Buah Sumpit

Sampel yang telah kering timbang sebanyak 1,0 Kg dimasukkan ke dalam wadah *macerator*, diberikan cairan penyari metanol sebanyak 6,0 L. Sampel direndam selama 3 hari sambil diaduk, sampai diperoleh larutan ekstrak metanol. Perendaman dan penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali sampai larutan hasil rendaman menjadi jernih. Sampel disaring dan larutan ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 55°C. Ekstrak kental metanol selanjutnya dilakukan penguapan maksimal dengan *water bath* dan dalam desikator. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian ditimbang.

2.3.2 Fraksinasi Ekstrak Metanol Buah Sumpit

Ekstrak metanol kering ditimbang sebanyak 615 g, selanjutnya dimasukkan ke dalam wadah gelas kimia, disuspensikan dengan aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam coraong pisah lalu ditambahkan dengan pelarut n-Heksana, dilakukan pengocokkan berulang-ulang hingga terjadi pemisahan dua lapisan air dan n-heksan. Lapisan n-heksan ditampung, dilakukan secara berulang sampai cairan n-heksan terlihat bening. Lapisan air selanjutnya diperlakukan dengan cara yang sama untuk proses fraksinasi tahap berikutnya secara bertingkat menggunakan pelarut etil asetat dan n-butanol. Masing-masing larutan ekstrak fraksi yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. Masing-masing ekstrak fraksi ditampung dan lakukan penguapan maksimal dalam *water bath* dan desikator. Masing-masing ekstrak fraksi yang diperoleh ditimbang.

2.3.2 Identifikasi Metabolit dan Pengujian BSLT

1. Identifikasi metabolit sekunder

Identifikasi kandungan kimia golongan senyawa menggunakan pereaksi kimia spesifik yaitu pereaksi Mayer dan Dragendorf (golongan alkaloid); pereaksi Lieberman-Burchard (golongan steroid dan terpenoid); serbuk Mg dan asam klorida (golongan flavonoid), pereaksi FeCl_3 2% (golongan tannin), dan uji saponin dilakukan dengan pembentukan buih menggunakan aquadest dan HCl. Uji metabolit sekunder dilakukan di laboratorium bahan alam fakultas farmasi Unmul dengan mengacu pada metode uji fitokimia seperti yang dijabarkan oleh Harborne [16].

2. Pengujian *Brine Shrimp Lethality* (BSL)

Ekstrak metanol, fraksi n-heksan, etil asetat dan n-butanol masing-masing dibuat larutan uji konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan stok. Selanjutnya larutan stok masing-masing ekstrak uji dibuat pengenceran dengan konsentrasi berturut-turut: 10,0; 5,0; 1,0; 0,5 dan 0,1 ppm untuk ekstrak metanol, n-heksan dan n-butanol, sedangkan untuk fraksi etil asetat dibuat pengenceran dengan deret konsentrasi: 5,0; 1,0; 0,5; 0,1 dan 0,01 ppm. Deret pengenceran ini digunakan untuk pengujian efek sitotoksiknya pada bioindikator larva udang *A. salina* Leach dengan 5 replikasi, dan 1 wadah sebagai kontrol negatif. Jumlah larva udang setiap replikasi berjumlah 10 ekor larva. Masing-masing wadah diberikan 1 tetras suspensi ragi sebagai sumber nutrisi larva. Pengamatan dan perhitungan aktifitas ekstrak terhadap bioindikator uji dilakukan setelah proses inkubasi selama 24 jam pada suhu kamar.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Identifikasi Metabolit Sekunder buah Sumpit

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme [17]. Sebagian besar tanaman penghasil senyawa metabolit sekunder dimanfaatkan untuk mempertahankan diri

dari makhluk hidup lain disekitarnya. Metabolit sekunder diperoleh dari hasil identifikasi menggunakan pereaksi spesifik golongan senyawa metabolit tumbuhan.

Tahap awal untuk mendeteksi golongan metabolit sekunder dapat dilakukan dengan menggunakan pereaksi kimia spesifik. Metabolit sekunder ekstrak uji buah sumpit diidentifikasi menggunakan pereaksi kimia semprot spesifik antara lain pereaksi Lieberman Bourchard, vanilin–asam sulfat dan asam fosfat 85% untuk terpenoid-sterol, Dragendorf dan Mayer untuk golongan alkaloid, aluminium (III) klorida dan Sitroborat untuk deteksi flavonoid/karatenoid, besi (III) klorida untuk deteksi polifenol/tannin, dan aquades-Hcl untuk deteksi saponin.

Tabel 1. menunjukkan hasil identifikasi golongan metabolit sekunder ekstrak metanol, n-heksan, etil asetat dan n-butanol buah sumpit menggunakan berbagai macam pereaksi kimia spesifik.

Tabel 1. Metabolit sekunder ekstrak metanol, n-heksan, etil asetat dan n-butanol

Metabolit sekunder	ekstrak/fraksi			
	metanol	n-heksan	Etil asetat	n-butanol
Alkaloid	-	+	-	-
Steroid/Triterpenoid	-	+	+	+
Flavanoid	-	-	-	-
Karatenoid	-	+	-	-
Fenolik	+	-	+	+
Tanin	+	-	+	+
Saponin	+	-	-	-

Keterangan: (-) Tidak teridentifikasi metabolit sekunder, (+) Teridentifikasi metabolit sekunder

Hasil identifikasi metabolit sekunder ekstrak metanol buah sumpit mengandung golongan senyawa fenolik, tanin dan saponin. Fraksi ekstrak n- heksan mengandung alkaloid, steroid dan triterpenoid, dan karatenoid. Fraksi ekstrak etil asetat dan n-butanol mengandung golongan senyawa steroid-terpenoid, fenolik dan tanin. Hasil penelitian ini sejalan dengan yang dilaporkan oleh Muliasari *et al.*, [4] dan Jacob *et al.*, [7], dimana hasil penelitiannya tidak menemukan adanya flavonoid. Namun, berbeda dengan hasil penelitian Pandiangan [18], dalam laporannya senyawa flavonoid ditemukan dalam buah tanaman ini. Perbedaan ini kemungkinan akibat pengaruh geografis dan kandungan unsur hara tanah di tempat tumbuh.

Menurut Sutrisno [19], senyawa alkaloid dinyatakan positif jika berwarna jingga jika diireaksikan dengan Dragendorf, dan coklat untuk Wagner. Reaksi positif warna jingga terbentuk karena adanya reaksi pembentukan kompleks antara ion logam bismut (Bi^{3+}) berlebih dengan golongan senyawa alkaloid [20]. Reaksi positif golongan senyawa terpenoid-steroid dengan pereaksi diagnostik vanilin asam sulfat berwarna merah pada sinar visibel, Lieberman Bouchard membentuk cincin merah [19]. Pembentukan warna pada senyawa terpenoid dan steroid disebabkan reaksi ionisasi sulfat (SO_2^-) pada gugus pada atom C-4, dimana senyawa steroid mengandung gugus hidroksil (OH^-) [21].

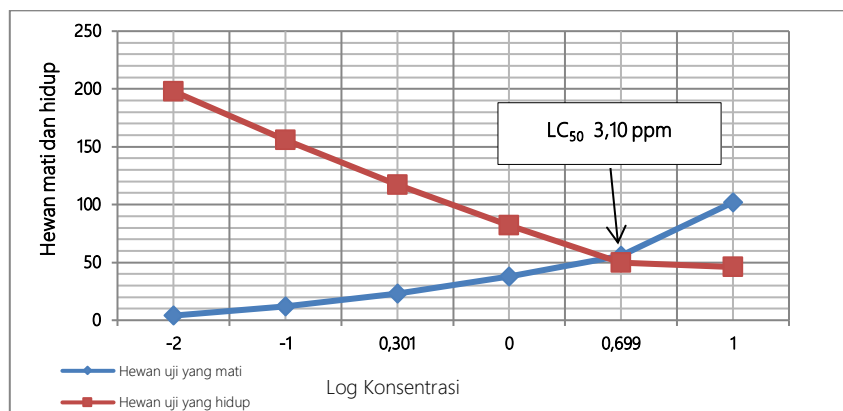
Uji golongan senyawa fenolik dan tanin menggunakan pereaksi diagnostik FeCl_3 , reaksi positif ditunjukkan dengan larutan berwarna hitam [19]. Fenolik bereaksi dengan FeCl_3 membentuk kompleks berwarna hitam, dimana FeCl_3 bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ aromatis [20, 21]. Kompleks berwarna yang terbentuk diduga sebagai besi (III) heksafenolat yang mengalami pergeseran batokromik ke arah panjang gelombang yang lebih besar [22].

3.2. Bioaktivitas Ekstrak Metanol dan fraksi n-Heksan Buah Sumpit

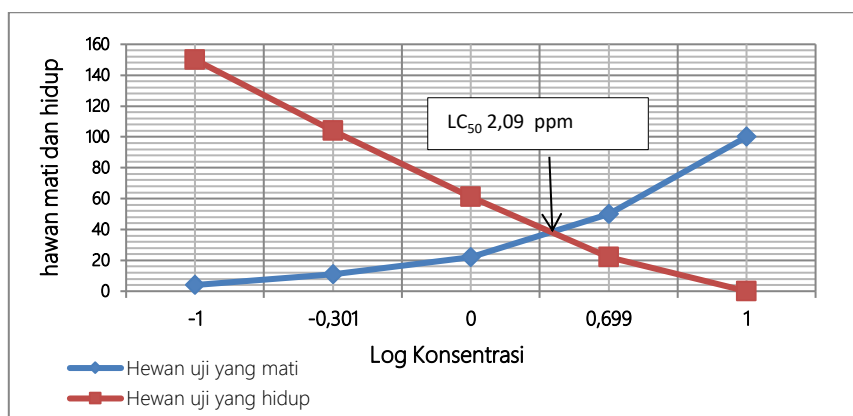
Hasil penelitian bioaktivitas ekstrak metanol buah sumpit diperoleh setelah dilakukan proses inkubasi selama 24 jam terhadap bioindikator uji. Data kematian jumlah larva udang yang mati untuk masing-masing ekstrak dan fraksi uji buah Sumpit, serta nilai LC_{50} aktifitas masing-masing ekstrak dan fraksi terhadap kematian bioindikator uji larva udang *Artemia salina* dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1; 2; 3 dan 4, di bawah ini.

Tabel. 2 Data kematian jumlah larva udang dari masing-masing ekstrak dan fraksi uji buah Sumpit

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Ekstrak/Fraksi			
		metanol	n-heksan	etil asetat	n-butanol
		mati	mati	mati	mati
0,01	-2	4	-	5	10
0,1	-1	8	4	10	11
0,5	-0,301	11	7	18	16
1	0	15	11	22	29
5	0,699	18	28	40	32
10	1	46	50	-	50

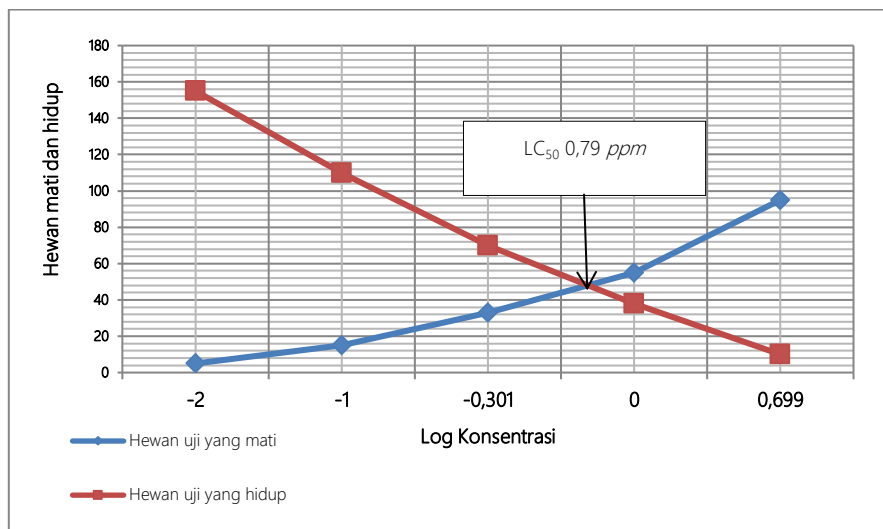


Gambar 1. Grafik nilai LC_{50} ekstrak metanol buah sumpit

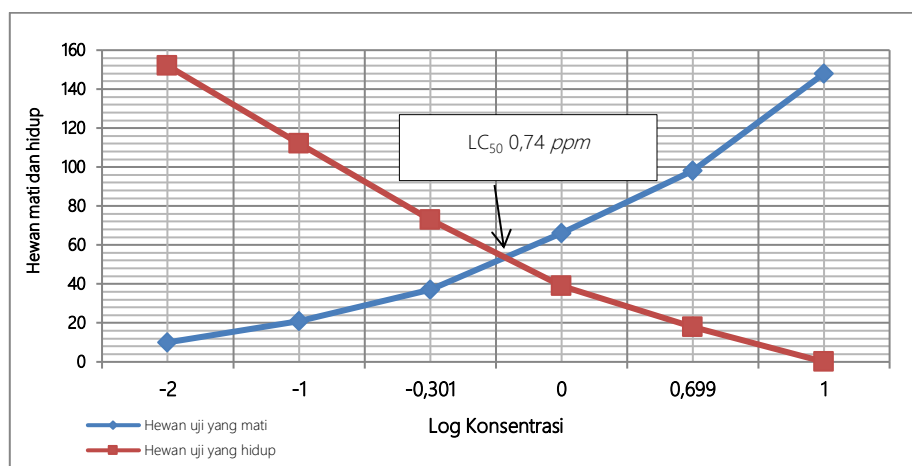


Gambar 2. Grafik LC_{50} fraksi n-heksan buah Sumpit

Hasil dari grafik LC_{50} Gambar 1 dan 2, menunjukkan bahwa kematian 50% hewan uji untuk pemberian ekstrak metanol dan fraksi n-heksan berada pada konsentrasi antara 1 ppm ($\log C$ 0) – 5 ppm ($\log C$ 0,699). Hasil uji ini membuktikan bahwa ekstrak methanol dan fraksi n-heksan buah Sumpit mampu membunuh 50% hewan uji *Artemia salina* Leach. Selain itu grafik Gambar 1 dan Gambar 2, menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak uji memberikan kemampuan daya bunuh larva udang yang semakin meningkat, hal ini terlihat semakin bertambahnya larva udang yang mati. Berdasarkan hasil analisis perhitungan dengan metode Reed and Muench diperoleh nilai LC_{50} 3,10 ppm untuk pemberian ekstrak metanol dan fraksi n-heksan diperoleh nilai LC_{50} 2,09 ppm. Berdasarkan nilai LC_{50} ekstrak metanol dan fraksi ekstrak n-heksan buah sumpit menunjukkan bahwa aktifitas kedua ekstrak ini berpotensi sebagai anti kanker ($LC_{50} < 30$ ppm) [23].



Gambar 3. Grafik LC_{50} fraksi etil asetat buah Sumpit



Gambar 4. Grafik LC_{50} fraksi n-butanol buah Sumpit

Hasil dari grafik LC_{50} Gambar 3 dan 5, menunjukkan bahwa kematian 50% hewan uji untuk pemberian fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol berada pada konsentrasi antara 0,5 ppm ($\log C$ -0,301) – 1 ppm ($\log C$ 0). Hasil uji ini membuktikan bahwa fraksi etil asetat dan n- butanol buah Sumpit mampu membunuh 50% hewan uji *Artemia salina* Leach. Selain itu grafik Gambar 3 dan Gambar 4, menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi perlakuan ekstrak uji memberikan kemampuan daya bunuh larva udang semakin meningkat, hal ini dapat dilihat pada data Tabel 1. Berdasarkan hasil analisis perhitungan dengan metode Reed and Muench

diperoleh nilai LC_{50} 0,79 ppm untuk pemberian fraksi etil asetat dan fraksi n-butanol sebesar LC_{50} 074 ppm. Berdasarkan nilai LC_{50} fraksi etil asetat dan n-butanol buah sumpit menunjukkan bahwa toksisitas dan aktifitas kedua fraksi uji ini berpotensi sebagai anti kanker yang sangat kuat ($LC_{50} < 30$ ppm) [24]. Hasil perhitungan nilai LC_{50} masing – masing ekstrak dan fraksi Buah sumpit dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini:

Tabel 3. Nilai LC_{50} Ekstrak Buah Sumpit

No.	Sampel	LC_{50} (ppm)
1.	Ekstrak kasar	3,10
2.	Fraksi n-heksana	2,09
3.	Fraksi etil asetat	0,79
4.	Fraksi n-butanol	0,74

Berdasarkan data Tabel 3, nilai LC_{50} masing-masing ekstrak dan fraksi uji dapat diketahui bahwa fraksi yang menunjukkan aktivitas yang paling kuat membunuh bioindikator uji *Artemia salina* Leach berturut-turut adalah fraksi n-butanol dengan nilai LC_{50} 0,74 ppm, kemudian fraksi etil asetat dengan LC_{50} 0,79 ppm, fraksi n- heksan dengan LC_{50} 2,09 ppm, dan ekstrak metanol dengan nilai LC_{50} 3,10 ppm. Ekstrak kasar metanol dan semua fraksi memiliki bioaktivitas yang baik dan sangat berpotensi sebagai anti kanker karena nilai $LC_{50} < 30$ ppm [24].

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa, golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam buah sumpit adalah alkaloid, karatenoid, saponin, tanin, golongan fenolik, steroid-terpenoid. Sedangkan untuk bioaktivitas ekstrak dan fraksinya berdasarkan nilai LC_{50} menunjukkan bahwa aktifitas ekstrak dan fraksi ekstrak berpotensi sebagai anti kanker ($LC_{50} < 30$ ppm).

KONTRIBUSI PENULIS

Konsep: Tajuddin Nur dan Arman Rusman; Metodologi: Tajuddin Nur dan Arsyik Ibrahim; Sumber: Tajuddin Nur, Arman Rusman dan Arsyik Ibrahim; Bahan: Tajuddin Nur dan Maria Almada; Pengawasan: Baso Didik Hikmawan dan Herman; Menulis—Meninjau: Tajuddin Nur, Maria Almeida dan Herman, Telaah Kritis: Arsyik Ibrahim; Editor: Arsyik Ibrahim; Koleksi Data: Tajuddin Nur dan Baso Didik Hikmawan, Pencarian literatur: Tajuddin Nur, Basos Didik Hikmawan, Maria Almeida dan Herman; Publikasi: Herman dan Arsyik Ibrahim.

PENDANAAN

(-)

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dekan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Kepala Laboratorium Farmasi Dasar, dosen pembimbing, dosen pembahas, seluruh tenaga laboran, dan pihak lain yang telah mendukung dan memberikan saran, dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan artikel ilmiah ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Para penulis menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam artikel ini.

REFERENSI

1. BAPPENAS. Indonesia Biodiversity Strategy and Action Plan (IBSAP) 2015-2020, Kementerian Perencanaan Pembangunan Nasional 2016.
2. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Indonesia memiliki 7.500 tanaman obat 2019. Diakses dari <http://lipi.go.id/berita/single/Indonesia-Miliki-7500-Tanaman-Obat/> 11540, pada tanggal 25 Mei 2019.
3. Su, B. N., Chang, L. C., Park, E. J., Cuendet, M., Santarsiero, B. D., Mesecar, A. D., Kinghorn, A. D. Bioactive constituents of the seeds of *Brucea javanica*. *J. Planta Medica* 2002, 68(8): 730-733.
4. Muliasari, H., Hamdin, C. D., Ihsan, M. Histologi Pankreas Tikus Diabetes Setelah Pemberian Suspensi Biji Buah Makassar (*Brucea javanica* (L.) Merr). *J. BioWallacea* 2017, 3(2): 88-93.
5. Arnida, A. Penelusuran Kandungan Alkaloid Tanaman Tantaran Gayung (*Brucea javanica* (L.) Merr) sebagai antimalarial, In: seminar Hasil Pekerti yang diselenggarakan DIKTI di Hotel Mirah Bogor. Bogor, Indonesia 2011; Pp 1-16.
6. Ifora, I., Kardela, W. Uji Aktivitas Antikolesterol Ekstrak Etanol Buah Malur (*Brucea javanica* (L.) Merr) Terhadap Mencit Putih Jantan Hiperkolesterolemia. *Jurnal Farmasi Higea* 2019, 11(1): 1-10.
7. Jacob, J.M., Rumlaklak, Y.Y. Identifikasi metabolit sekunder *Brucea javanica* (L) Merr di pulau Timor melalui uji fitokimia. *Jurnal Kajian Veteriner* 2020, 8(1): 43-53. DOI: <https://doi.org/10.35508/jkv.v8i1.1927>
8. Sakaki, T., Yoshimura, S., Ishibashi, M., Tsuyuki, T., Takahashi, T., Honda, T., Nakanishi, T. Structures of new quassinoid glycosides, yadanziosides A, B, C, D, E, G, H, and new quassinoids, dehydrobrusatol and dehydrobruceantinol from *Brucea javanica* (L.) Merr. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 1985, 58(9): 2680-2686.
9. Sakaki, T., Yoshimura, S., Tsuyuki, T., Takahashi, T., Honda, T., Nakanishi, T. Structures of yadanziosides K, M, N, and O, new quassinoid glycosides from *Brucea javanica* (L.) Merr. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 1986, 59(11): 3541-3546.
10. Yu, Y. N., Li, X. Studies on the chemical constituents of *Brucea javanica* (L.) Merr. *Yao xue xue bao, Acta pharmaceutica Sinica* 1990, 25(5): 382-386.
11. Su, Z., Hao, J., Xu, Z., Huang, R., Zhang, N., Qiu, S. A new quassinoid from fruits of *Brucea javanica*. *J. Natural Product Research* 2013, 27(21): 2016-2021.
12. Chen, M., Chen, R., Wang, S., Tan, W., Hu, Y., Peng, X., Wang, Y. Chemical components, pharmacological properties, and nanoparticulate delivery systems of *Brucea javanica* L. *International Journal of Nanomedicine* 2013, 8 : 85-92.
13. Sutningsih, D., Purwantisari, S. Anticancer Activity of Bruceine A Isolated from The Seeds of *Brucea javanica* L on Hela Cell, In ASEAN/Asian Academic Society International Conference Proceeding Series. Thailand, 4-5 November 2013. Pp. 59-61.
14. Widiyantoro, A. Prospective Secondary Metabolite of Famili *Simaroubaceae*. *Jurnal Penelitian Saintek* 2014, 19(2): 14-22.
15. Yanuarti, G., Ramadhan, A.M., Masruhim, M.A. Aktivitas Ekstrak Daun Sumpit (*Brucea Javanica* (L.) Merr) Sebagai Antijamur. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2015, 1(2), hal 61-68.
16. Harborne, J. B. Metode Fitokimia 1987, Edisi Kedua. ITB. Bandung.
17. Ahmad, I., Ibrahim, A. Bioactivity methanol extract and n-hexane fraction of Sungkai leaf (*Peronema canescens* Jack) against shrimp larvae *Artemia salina* Leach. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2015, 1(3):114-9. doi: <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i3.27>.
18. Pandiangan, C. P. Aktivitas Buah Makasar (*Brucea javanica* (L.) Merr.) sebagai Antikanker. *Jurnal Agro-medicine* 2015, 2(2):113-117.
19. Sutrisno, R.B. Thin Layer Chromatography Reagents 1993, Issue 1, Prints 1, Jakarta, Pancasila University.
20. Wardana, A.P. Elucidation of Isolated Compound Structures from Gowok (*Shzygius Polycephalum*) Chloroform Tract Skin Extracts and Antioxidant Activity Test, Bachelor's Thesis, 2016, Department of Chemistry FMIPA Surabaya University, Surabaya.

21. Haryati, N.A., C.S. Erwin. Toxicity Test and Antibacterial Activity of Red Leaf Extract (*Syzygium mytifolium* Walp) against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria. *J. Chemistry Mulawarman* 2015, 13 (1): 35-39
22. Marlina, S.D., Saleh, C. Phytochemical Test and Antibacterial Activity of Ethanol Rough Extract, n-Hexane, Ethyl acetate, and Methanol Fraction from Water Pumpkin Fruit (*Lagenari Siceraria* (Morliana). *J. Mulawarman Chemistry* 2011, 8(2): 39-63.
23. Geran RI, Greenberg NH, Macdonald MM, Shumacher AM AB. Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems. *Cancer Chem Reports* 1972; 3:807.
24. American Cancer Society. *Cancer facts & figures* 2024. Available from: <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics>. [Accessed 2024 Feb 28]