

LC-MS Ekstrak Herba Anggrek Macan (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl. serta Uji Aktivitas Sitotoksik

Christina de Fretes¹, Eva Simaremare¹, Elsy Gunawan¹,
Verena Agustini^{2*}, Yusuf Eka Maulana^{3,4}, Nabila Nur Fadhillah⁴

Artikel Penelitian

¹ Program Studi Farmasi,
Jurusan Farmasi, Fakultas
MIPA, Universitas
Cenderawasih Jayapura-
Papua

² Program Studi Biologi,
Fakultas MIPA, Universitas
Cenderawasih Jayapura-
Papua

³ Horticulture Laboratory
Department of Agronomy,
Faculty of agriculture,
Universitas Padjajaran,
Sumedang 45363, Indonesia

⁴ Organic chemistry Program,
Institut Teknologi Bandung,
Jalan Ganesha 10, Bandung
40132, Indonesia

Korespondensi:

Verena Agustini
verena.agustini@gmail.com

Abstract: Tiger orchid (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.) It is one of the plants that are favored among the community as ornamental plants because of its beautiful flowers. Tiger orchids have secondary metabolite compounds of alkaloids, flavonoids, and tannins that can be used as traditional medicine. However, research on tiger orchids in the field of pharmacology is still very limited. The purpose of this study is to find out the content of chemical compounds contained in the herb extract of tiger orchids (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.) as well as LC_{50} and concentration of tiger orchid herb extract (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.) It most effectively kills shrimp larvae (*Artemia salina* Leach.). The sample used was sampled using 96% ethanol. Tiger orchid (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.) pregnant 2',6'-Dihydroxy-4'-methoxy-dihydrochalcone, Apigenin-7-O- α -L-rhamnose(1 \rightarrow 4)-6"-O-acetyl- β -D-glucoside, Kushenol H, Rubrofusarin, 3-Hydroxy baicalein and Luteolin obtained from the results of the analysis using Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LCMS). The results showed that the herb extract of tiger orchid (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.) has cytotoxic activity with an LC_{50} value of 150.96 ppm.

Keywords: tiger orchid (*Grammatophyllum scriptum*), cytotoxic, LCMS, *Artemia salina* larvae

Abstrak: Anggrek macan (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.) merupakan salah satu tanaman yang digemari di kalangan masyarakat sebagai tanaman hias karena bunganya yang indah. Anggrek macan memiliki senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid dan tannin yang dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional. Namun, penelitian mengenai anggrek macan di bidang farmakologi masih sangat terbatas. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak herba anggrek macan secara LC-MS/MS serta nilai LC_{50} dan konsentrasi dari ekstrak herba Anggrek macan yang paling efektif membunuh larva udang (*Artemia salina* Leach.). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengambilan sampel dari kebun Anggrek yang ada di Lingkungan FMIPA Universitas Cenderawasih Papua-Indonesia, selanjutnya sampel dibuat dalam bentuk simplisia, diekstraksi dengan etil asetat. Ekstrak selanjutnya dianalisis dengan LC-MS/MS dan dari ekstrak tersebut juga dilakukan uji sitotoksik dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa anggrek macan (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.) mengandung 2',6'-Dihydroxy-4'-methoxy-dihydrochalcone, Apigenin-7-O- α -L-rhamnose(1 \rightarrow 4)-6"-O-acetyl- β -D-glucoside, Kushenol H, Rubrofusarin, 3-Hydroxy baicalein dan Luteolin yang diperoleh dari hasil analisis menggunakan *Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS). Ekstrak herba anggrek macan memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC_{50} 150,96 ppm dengan tergolong kurang toksik.

Kata kunci: anggrek macan (*Grammatophyllum scriptum*), BSLT, sitotoksik, LC-MS, larva *Artemia salina*

Pendahuluan

Provinsi Papua memiliki hutan terluas di Indonesia yaitu 34.209.769 ha, di mana hutan ini memiliki tumbuhan kayu dan non kayu khas yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat setempat (1). Saat ini, pencarian senyawa baru masa depan beralih ke bahan alam (2). Target tanaman tumbuhan yang menjadi sumber obat baru sekarang banyak beralih ke anggrek yang ternyata sejak dulu sudah digunakan sebagai *etnomedicine* dan obat tradisional (3, 4, 5).

Anggrek diketahui banyak mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, karbohidrat dan senyawa fitokimia lainnya sehingga sudah dimanfaatkan sebagai *traditional healing* dan *traditional medicine* (6, 7). Anggrek macan merupakan salah satu tanaman hias dari suku Orchidaceae yang banyak diminati karena bentuk dan warnanya yang unik dan cantik (8). Anggrek macan banyak dijumpai di daerah hutan Timur seperti Maluku (9) dan Papua khususnya di daerah Parai, Distrik Biak Timur, Kabupaten Biak Numfor (wilayah adat Saireri).

Menurut penelitian sebelumnya, anggrek macan (*Grammatophyllum scriptum* (Lindl.) Bl.) berpotensi sebagai obat (10, 11) karena mengandung alkaloid, flavonoid dan tannin (12). Menurut penelitian Coe pada tahun 2010, ekstrak yang mengandung alkaloid berpotensi bersifat sitotoksik yang dapat menyebabkan kematian pada hewan uji larva udang pada konsentrasi LC_{50} di bawah dari 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan ekstrak yang tidak mengandung alkaloid namun berpotensi bersifat sitotoksik disebabkan oleh kandungan terpen pada ekstrak sampel (13). Sejauh ini senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman ini belum dilaporkan, sehingga perlu secara terus-menerus mengkaji senyawa aktif yang terkandung di dalam anggrek macan.

Uji praklinis toksisitas terhadap ekstrak tumbuhan obat merupakan pengujian awal untuk dapat memprediksi tingkat keamanannya sehingga dapat dilanjutkan dengan uji farmakologi lainnya. Uji sitotoksik terhadap ekstrak tumbuhan obat juga dapat dikembangkan untuk obat alternatif antikanker (2, 14, 15, 16).

Pada pengujian ini digunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode BSLT

merupakan salah satu uji toksisitas yang memiliki spektrum aktivitas farmakologi yang luas, prosedur pengujian yang sederhana, cepat serta hasilnya dapat dipertanggungjawabkan untuk skrining toksisitas dari ekstrak tanaman dengan menggunakan hewan laut yaitu larva udang *Artemia salina* Leach. Dari perhitungan jumlah larva udang yang mati, nanti akan dikonversikan ke LC (*lethal concentration*) dari ekstrak yang dapat membunuh larva (17, 18).

Metodologi Penelitian

Penyiapan Bahan

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah herba Anggrek Macan. Anggrek ini diambil dari hutan lindung yang ada di Lingkungan FMIPA Universitas Cenderawasih Papua-Indonesia. Sampel dicuci dengan air mengalir hingga tidak terdapat kotoran-kotoran yang menempel (sortasi basah), dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian ditiriskan untuk membebaskan tumbuhan dari sisa-sisa air cucian. Tumbuhan yang telah bersih dan bebas dari sisa air cucian kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia kering dibersihkan kembali dari kotoran yang mungkin tidak hilang pada saat pencucian (sortasi kering). Tahap selanjutnya simplisia kering dihaluskan sehingga menjadi simplisia serbuk kemudian disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat dengan suhu ruang.

Ekstraksi

Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 100 gram kemudian diekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1,2 L selama 3 hari sambil diaduk setiap satu kali 24 jam lalu disaring. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai kental dan dipekatkan.

Analisis ekstrak herba Anggrek Macan menggunakan cair spektrometri massa tandem (LC-MS/MS)

Sebanyak 0.5 gr ekstrak etil asetat Anggrek Macan dimasukkan dalam labu 10 ml kemudian ditambahkan metanol. Sonikasi selama 30 menit, kemudian disaring menggunakan membran filter PTFE 0,22 μm . Sampel yang telah disaring kemudian injeksikan ke dalam sistem UHPLC Waters Acquity Tandem Xevo G2S QTOF. Analisis

menggunakan LC-MS/MS dilengkapi dengan pompa biner dan detector spectrometer massa *Quadropole Time of Flight* (MS-QTOF) dengan sumber Ionisasi Elektro Spray (ESI). Analisis sampel menggunakan MS-QTOF dengan mode ionisasi positif dan negative, acquisition range 50-1200 Da, kolom non polar C18 XTerra® RP 18 3,5µm, suhu kolom 40°C, eluen yang digunakan adalah Asam format 0.1% dalam asetonitril (A) dan Asam 0.1% aquadest (B) dengan sistem elusi isokratik. Sistem elusi isokratik dilakukan pada 0-1 menit 95: 5 rasio, 0 menit gradien elusi linier A dari 95% hingga 5%, elusi isokratik 6-7 menit 0: 100 rasio, 6-7 menit pelarut elusi gradien linier A dari 0% hingga 100%, min 7,5-9 elusi isokratik 95: 5 rasio, hingga 7,5-9 menit gradien elusi linier A pelarut dari 95% sampai 5%. Eluen diatur pada laju alir 0,6 mL/menit dan volume injeksi 10 µL. Interpretasi data spektrum massa LC-MS/MS menggunakan software UNIFI yang didalamnya telah memiliki *library* spektrum massa zat aktif bahan alam dari *database waters* (19, 20).

Penetasan Telur *Artemia salina* (Leach.)

Telur *A. salina* Leach. ditetaskan dalam wadah penetas telur dengan dua bagian ruang bersekat, satu bagian ruang gelap dan yang satu terang. Sekat dibuat berlubang dengan diameter 2 mm. Air laut dimasukkan ke dalam wadah serta diaerasi menggunakan aerator. Sejumlah *A. salina* Leach. dimasukkan kedalam satu ruang, kemudian ruang ini ditutup. Sisi yang lain dibiarkan terbuka dan diberi lampu untuk menarik *A. salina* Leach. yang telah menetas melalui lubang sekat. Telur akan menetas setelah kira-kira 24 jam menjadi larva. Larva yang berumur 48 jam dapat digunakan untuk uji toksisitas (17).

Preparasi Sampel Uji

Ekstrak anggrek dibuat larutan stok yaitu masing-masing dengan cara melarutkan 200 mg sampel dalam 200 mL pelarut yang sesuai sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Pelarut etil asetat yang digunakan disesuaikan dengan sifat kelarutan sampel. Seri konsentrasi sampel uji dibuat dengan pengambilan volume tertentu dari larutan stok menggunakan mikropipet dan dimasukkan dalam vial. Ekstrak ditimbang dan dilarutkan dalam air

laut sehingga didapatkan konsentrasi 0,10, 50, 100,250, 500, 750 dan 1000 ppm (17).

Uji Sitotoksik dengan Metode BSLT

Uji BSLT dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 gram telur *A. salina* Leach (Supreme plus) ditetaskan dalam 1.000 mL air laut selama 48 jam. Setelah dua hari, telur *A. salina* Leach akan menetas menjadi naupili atau larva *A. salina* Leach dan digunakan untuk uji toksisitas. Larutan ekstrak etanol 96% masing-masing dibuat dengan konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm dengan kontrol 0 ppm. Larutan kontrol digunakan sebagai acuan untuk melihat pengaruh pelarut terhadap larva *A. salina* Leach. Pengujian dilakukan dengan membuat seri konsentrasi yang telah ditentukan dari masing-masing pelarut kemudian mengisi ke dalam vial sebanyak 5 mL. Pelarut dalam vial diupkan untuk menghilangkan pelarutnya dengan tujuan agar aktivitas murni dari ekstrak tanpa adanya pengaruh dari pelarutnya. Setiap konsentrasi dari ekstrak menggunakan 10 larva udang sebagai hewan uji sitotoksik, dengan air laut yang ditambahkan sebanyak 4 mL. Perlakuan uji sitotoksik ini dilakukan 10 kali pengulangan untuk mendapatkan data yang baik sehingga dapat dihitung secara statistik dari data yang diperoleh (18).

Uji LC_{50}

Vial yang berisi larutan uji dikeringkan sampai semua pelarutnya menguap. Pengerjaan ini dilakukan agar kematian larva tidak dipengaruhi oleh pelarutnya. Larutan kontrol negatif dibuat dengan cara yang sama tanpa menambahkan ekstrak. Larutan kontrol negatif terdiri atas 5 mL air laut yang berisi pelarut dan 1-2 tetes DMSO 1 % dan 10 ekor larva *A. salina* Leach. Penggunaan DMSO 1 % sebanyak 1-2 tetes (50-100 µL) berfungsi untuk membantu kelarutan.

Dimetilsulfoksida (DMSO) merupakan cairan tak berwarna yang memiliki rumus $(CH_3)_2SO$ merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Larva udang yang digunakan yaitu larva yang berumur 48 jam setelah menetas. Larva yang berumur 48 jam adalah keadaan paling peka hewan uji karena dinding selnya masih lunak sehingga hanya

diperlukan konsentrasi sampel yang kecil untuk menimbulkan efek yang mematikan. Jumlah larva udang yang mati dihitung setelah 24 jam. Jumlah larva udang yang masih hidup setelah diinkubasi dihitung (17). Persen larva udang yang mati dihitung menurut persamaan:

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

Jika terjadi kematian pada kontrol uji dapat dikoreksi dengan rumus *Aboot*, yaitu :

$$\% \text{ Kematian} = \frac{\text{Jumlah larva (mati - kontrol)}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Analisis Data

Nilai data hasil penelitian adalah data primer yang didapatkan dari jumlah larva *A. salina* Leach. yang mati 24 jam setelah perlakuan pada tiap-tiap konsentrasi ekstrak anggrek aacan. Data dianalisis dengan menggunakan analisis adalah konsentrasi yang diperlukan untuk membunuh 50% larva udang *A. salina* Leach. nilai ditentukan dengan analisis probit . Efek toksisitas terhadap *A. salina* Leach. ditentukan berdasarkan analisis probit melalui tabel probit dan dibuat persamaan regresi linier antara log konsentrasi dan nilai probit.

$$y = bx + a$$

Dimana y = angka probit, dan x = log konsentrasi

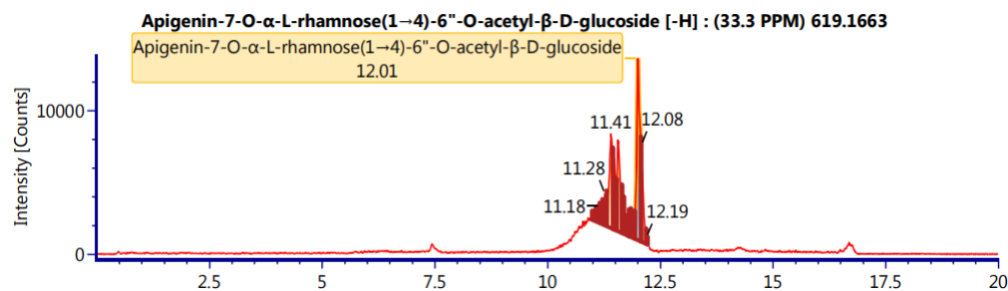
Persamaan tersebut dapat digunakan untuk mengetahui nilai LC_{50} komponen herba anggrek macan (*G. scriptum* (Lindl.) Bl.), dengan memasukkan nilai probit 5 (50% kematian) ke persamaan tersebut sehingga diperoleh

konsentrasi yang menyebabkan 50% kematian (17).

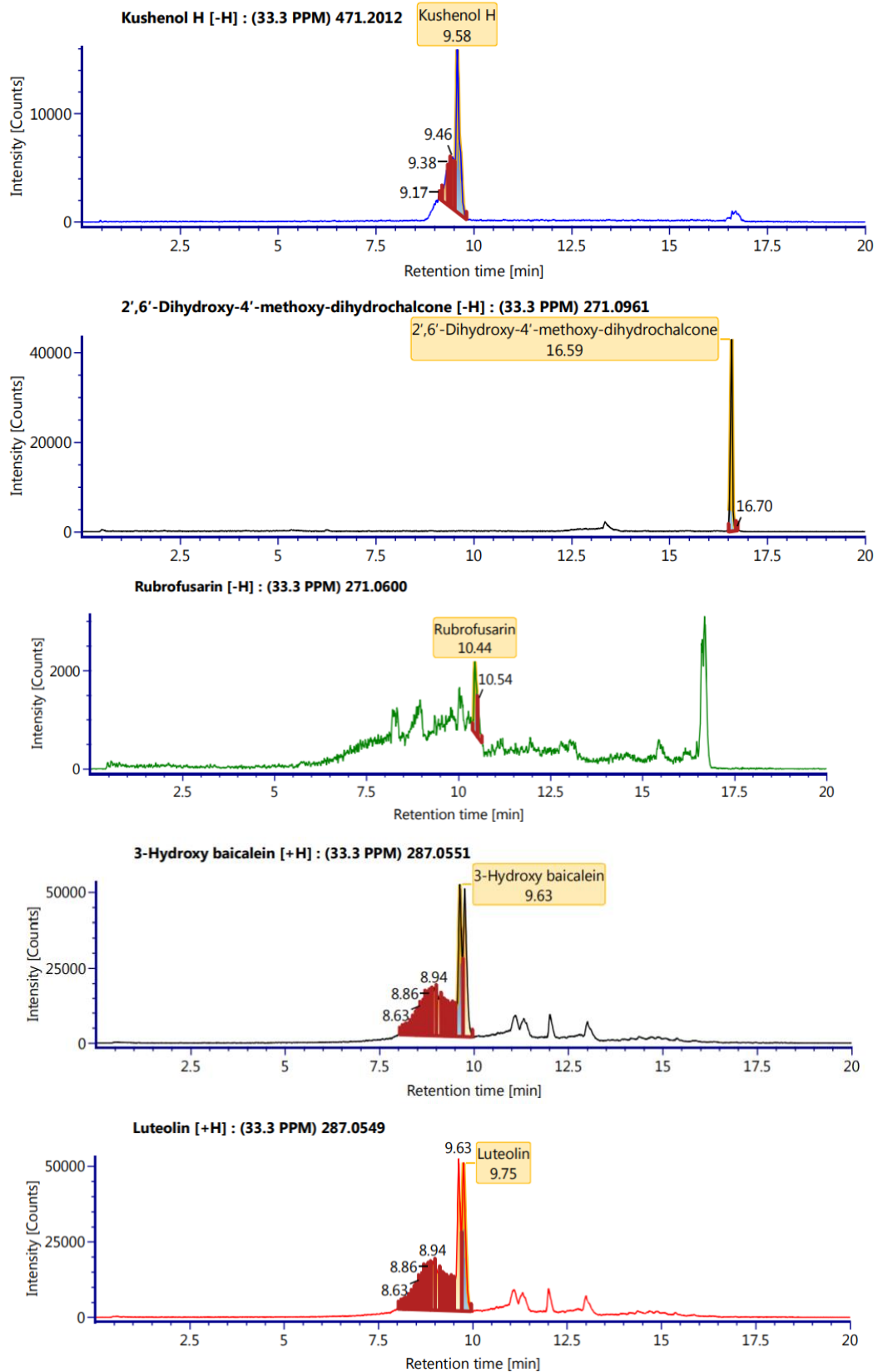
Hasil dan Pembahasan

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi karena pada metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga rusaknya senyawa yang tidak tahan panas dapat dihindari. Serbuk simplisia herba anggrek macan sebanyak 100 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:12 dan dilakukan perendaman selama 3x24 jam, pengadukan dilakukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk sampel sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel (21, 22, 23).

Liquid Chromatograph Mass Spectrometry (LC-MS) ialah teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifitas deteksi spektrometri massa. Kromatografi cair memisahkan komponen-komponen sampel dan kemudian ion bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa. Keuntungan menganalisis menggunakan LC-MS/MS ialah dapat menganalisis lebih luas berbagai komponen seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi bahkan juga protein (24) (25). Dari hasil analisis ekstrak herba *G. scriptum* (Lindl.) Bl. menggunakan LC-MS/MS diperoleh beberapa senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak sampel yang digunakan. Pengujian kualitatif ini dibandingkan dengan Natural Product Library (26).



Gambar 1. Kromatogram senyawa hasil LC-MS terhadap waktu retensinya



Gambar 1 (.....sambungan). Kromatogram senyawa hasil LC-MS terhadap waktu retensinya

Dari hasil analisis menggunakan LC-MS, ekstrak herba anggrek macan (*G. scriptum* (Lindl.) Bl.) mengandung 2',6'-Dihydroxy-4'-methoxy-dihydrochalcone, Apigenin-7-O- α -L-rhamnose (1 \rightarrow 4)-6"-O-acetyl- β -D-glucoside, Kushenol H, 3-Hydroxy baicalein, Luteolin dan Rubrofusarin (**Tabel 1**). Dimana rubrofusarin merupakan turunan dari poliketida (27). Menurut Wang, poliketida memiliki manfaat sebagai antibiotik serta antikanker (28). Pada genus yang sama, spesies yang berbeda diperoleh isolate Gastrodin, Isovitexin, R-asam-2-benzilamat, dan R-asam eucomic (28).

Pada pengujian penelitian ini digunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT sering digunakan sebagai uji pendahuluan/praskrining aktivitas biologis yang sederhana untuk menentukan toksisitas suatu senyawa dari sampel dengan menggunakan hewan uji larva udang (*A. salina* Leach.). Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC₅₀ (*Lethal Concentration*), yaitu jumlah konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam (29). Nilai LC₅₀ >1000 ppm dikategorikan tidak beracun (30).

Beberapa kelebihan dari metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang (*A. salina* Leach.) adalah cepat waktu ujinya, mudah, tidak memerlukan peralatan khusus, sederhana (tanpa teknik aseptik), murah (tidak perlu serum hewan), jumlah organisme banyak, memenuhi kebutuhan validasi statistik dengan sedikit sampel, hasilnya *representative* dan dapat dipercaya (17) (30).

Hewan uji larva udang yang digunakan dalam penelitian ini adalah sepuluh ekor larva udang dalam setiap konsentrasi masing-masing ekstrak. Pengujian ini dilakukan sebanyak sepuluh kali pengulangan/ replikasi agar mendapatkan data yang akurat dan baik sehingga dapat dihitung secara statistik dari data yang diperoleh. Jumlah larva yang digunakan untuk keseluruhan larutan uji ialah 800 ekor dengan sepuluh kali pengulangan. Kemudian larva yang telah berumur 48 jam dimasukkan ke dalam vial yang berisi larutan uji masing-masing 10 ekor yang

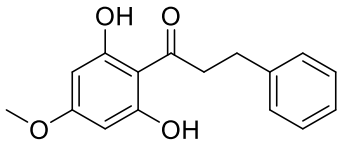
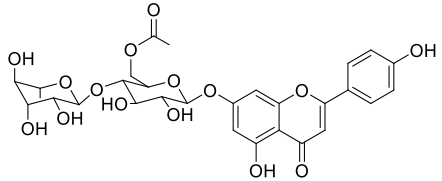
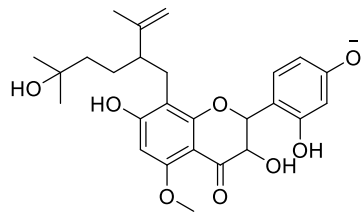
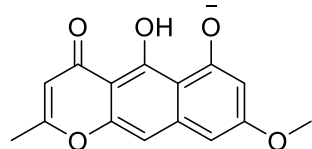
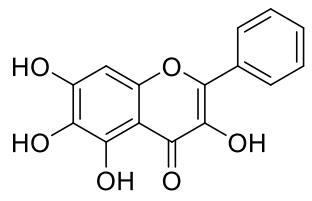
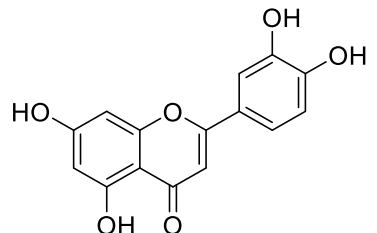
telah ditetes DMSO yang berguna untuk membantu melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar (31) (32).

Tingkat mortalitas/ kematian larva udang dengan berbagai konsentrasi ekstrak herba anggrek macan (*G. scriptum* (Lindl.) Bl.) disajikan pada **Tabel 2**. Dari nilai probit dan log konsentrasi diperoleh regresi linier $Y=1,997x+0.7169$ dengan $R^2=0.9148$. Berdasarkan hasil perhitungan nilai LC₅₀ dari ekstrak herba anggrek macan diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 150,96 ppm dimana nilai tersebut lebih kecil atau kurang dari 1000 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak herba anggrek macan termasuk dalam kategori toksik dan dapat dikembangkan sebagai tumbuhan yang berpotensi sebagai obat.

Hasil penelitian uji sitotoksik ekstrak herba anggrek macan menunjukkan bahwa LC₅₀ sebesar 150.96ppm dengan aktivitas toksik. Hal ini mengindikasikan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin tinggi persen kematian pada hewan uji larva udang. Ekstrak herba anggrek macan memiliki aktivitas toksik dapat didukung juga dengan terkandungnya senyawa metabolit sekunder yang dapat bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Apabila senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh larva maka alat pencernaan dari hewan uji tersebut akan terganggu (33). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam anggrek macan adalah flavonoid, alkaloid dan tannin.

Penelitian sejenis dari anggrek Papua *Dendrobium lasianthera* menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang *D. lasianthera* memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC₅₀ 699,3 ppm, ekstrak etil asetat batang 602,1 ppm, fraksi n-heksana batang LC₅₀ 329,6 ppm, fraksi etanol 96% batang 676 ppm dan fraksi etil asetat daun *D. lasianthera* 833,2 ppm (Agustini et al, 2020). Dari hasil penelitian sebelumnya jika dibandingkan dengan penelitian ekstrak herba anggrek macan, nilai toksisitas anggrek macan lebih toksik karena memiliki senyawa-senyawa di dalam ekstrak etanol lebih kuat menghambat sel dari larva udang.

Tabel 1. Hasil analisis LC-QTOF/MS ekstrak etanol herba anggrek macan (*G. scriptum* (Lindl.) Bl.)

No	Senyawa	Formula	Waktu retensi (min)	Massa Error	Mode ESI	[M-H ⁺] atau [M+H ⁺] (m/z)
1	2',6'-Dihydroxy-4'-methoxy-dihydrochalcone 	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	16.58	-5.5	(-)	271.09610
2	Apigenin-7-O-α-L-rhamnose(1→4)-6"-O-acetyl-β-D-glucoside 	C ₂₉ H ₃₂ O ₁₅	12.02	-0.9	(-)	619.16626
3	Kushenol H 	C ₂₆ H ₃₂ O ₈	9.59	-2.7	(-)	471.20119
4	Rubrofusarin 	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	10.46	-4.5	(-)	271.0600
5	3-Hydroxy baicalein 	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	9.63	0.2	(+)	287.05469
6	Luteolin 	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	9.77	-0.5	(+)	287.05512

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat aktivitas sitotoksik dari ekstrak herba anggrek macan (*G. scriptum* (Lindl.) Bl.) dengan metode BSLT. Hasil uji sitotoksik ekstrak herba anggrek macan menunjukkan bahwa nilai LC₅₀ adalah 150,96 ppm. Disimpulkan bahwa ekstrak etanol herba anggrek macam toksik

Ucapan Terima Kasih

Econusa dan Provinsi Papua Barat sebagai pemberi Hibah Penelitian tahun 2021.

Referensi

1. KLHK. Laporan tentang deforestasi di tanah papua pada areal pelepasan kawasan hutan 15. Laporan [Internet]. 2021; Available from: https://www.menlhk.go.id/site/single_post/3606/laporan-tentang-deforestasi-di-tanah-papua-pada-areal-pelepasan-kawasan-hutan
2. Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules*. 2016;21(5).
3. Adeleye OA, Femi-Oyewo MN, Bamiro OA, Bakre LG, Alabi A, Ashidi JS, et al. Ethnomedicinal herbs in African traditional medicine with potential activity for the prevention, treatment, and management of coronavirus disease 2019. *Futur J Pharm Sci*. 2021;7(1).
4. Husain F, Sary DP, Fajar, Iswari R, Wahidah BF. Ethnobotanical knowledge of plant ingredients among sellers of jamu Ngadirgo Semarang. *KOMUNITAS Int J Indones Soc Cult* [Internet]. 2020;12(2):150–62. Available from: <http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/komunitas>
5. Falah F, Hadiwibowo N. Species Identification of Traditional Medicine Plants for Women'S Health in East Kalimantan: Lesson Learned From Local Wisdom. *Indones J For Res*. 2017;4(1):49–68.
6. Regina Marinta Sinaga, Fikarwin Zuska, Panal Sitorus. Indegenous Healer Knowledge About Illness and The Way to Make Traditional Medicine. *Indones J Med Anthropol*. 2021;2(1):43–7.
7. Tsering J, Tam N, Tag H, Gogoi BJ, Apang O. Medicinal Orchids of Arunachal Pradesh: a Review. *Bull Arunachal For Res* [Internet]. 2017;32(1 & 2):1–16. Available from: <http://sfribulletin.org.in/wp-content/uploads/2017/07/Vol.-3212-1-16.pdf>
8. Macdonald AD. Theoretical problems of interpreting floral organogenesis of *Laportea canadensis*. *Can J Bot*. 1974;52(3):639–44.
9. Nurfadilah S. Utilization of orchids of Wallacea region and implication for conservation. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2020;473(1).
10. Waruruai J, Sipana B, Koch M, Barrows LR, Matainaho TK, Rai PP. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Siwai and Buin districts of the Autonomous Region of Bougainville. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2011;138(2):564–77. Available from: <dx.doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.052>
11. Musharof Hossain M. Therapeutic orchids: Traditional uses and recent advances - An overview. *Fitoterapia* [Internet]. 2011;82(2):102–40. Available from: <dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2010.09.007>
12. Nugraha AS, Triatmoko B, Wangchuk P, Keller PA. Vascular epiphytic medicinal plants as sources of therapeutic agents: Their ethnopharmacological uses, chemical composition, and biological activities. *Biomolecules*. 2020;10(2).
13. Coe FG, Parikh DM, Johnson CA. Alkaloid presence and brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay of medicinal species of eastern Nicaragua. *Pharm Biol*. 2010;48(4):439–45.
14. Atanasov AG, Zotchev SB, Dirsch VM, Orhan IE, Banach M, Rollinger JM, et al. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Discov*. 2021;20(3):200–16.
15. Valle AL. Current methodologies in assessing toxicity of natural products. *Int J Phytocosmetics Nat Ingredients*. 2018;5(1):3–3.
16. Cragg GM, Newman DJ. Drug Discovery and Development from Natural Products: The Way Forward. 11th NAPRECA Symp B

- Proceedings, Antananarivo, Madagascar [Internet]. 1997;1(5):56–69. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/0d0b/b035b72c23e2091c1179cfd64807fe41a37b.pdf>
17. Waghulde S, Kale MK, Patil V. Brine Shrimp Lethality Assay of the Aqueous and Ethanolic Extracts of the Selected Species of Medicinal Plants. 2020;2:47.
 18. Sarah QS, Anny FC, Misbahuddin M. Brine shrimp lethality assay. *Bangladesh J Pharmacol.* 2017;12(2):186–9.
 19. Zubair MS, Maulana S, Widodo A, Pitopang R, Arba M, Hariono M. Gc-ms, lc-ms/ms, docking and molecular dynamics approaches to identify potential sars-cov-2 3-chymotrypsin-like protease inhibitors from zingiber officinale roscoe. *Molecules.* 2021;26(17).
 20. Alkandahri MY, Maulana YE, Subarnas A, Kwarteng A, Berbudi A. Antimalarial activity of extract and fractions of cayratia Trifolia (L.) domin. *Int J Pharm Res.* 2020;12(April 2021):1435–41.
 21. Patel K, Panchal N, Ingle DP. Review of Extraction Techniques. *Int J Adv Res Chem Sci.* 2019;6(3):6–21.
 22. Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG, Lightfoot DA. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants.* 2017;6(4).
 23. Nn A. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Med Aromat Plants.* 2015;04(03):3–8.
 24. Agilent-Technologies. Basics of LC/MS. 1998;
 25. Huang, Henion. Erratum to: “LC/MS/MS Determination of Protein Tryptic Digests.” *J Am Soc Mass Spectrom.* 1990;1(6):498.
 26. Alhendi AS. A review: Protein identification by LC-MS: Principles, instrumentation, and applications. *Iraqi J Sci.* 2020;61(10):2448–66.
 27. Tanaka H, Ohne Y, Ogawa N, Tamura T. The chemical constitution of rubrofusarin. *Agric Biol Chem.* 1963;27(1):48–55.
 28. Wang J, Zhang R, Chen X, Sun X, Yan Y, Shen X, et al. Biosynthesis of aromatic polyketides in microorganisms using type II polyketide synthases. *Microb Cell Fact* [Internet]. 2020;19(1):1–11. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01367-4>
 29. Andini A, Prayekti E, Dyah Wulandari D, Nidianti E. Cytotoxicity Assay Using Brine Shrimp Lethality Test on Collagen-Chitosan Wond Dressing Sterilized By Ultraviolet Light. *Indones J Med Lab Sci Technol.* 2020;2(1):21–6.
 30. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* 1982;45(1):31–4.
 31. Company GC. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Solubility Data. 2007;1–20.
 32. Science C. Prediction of compound solubility in Dimethyl sulfoxide using machine learning methods including graph neural networks. 2020;
 33. Supriningrum R, Sapri S, Pranamala VA. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar KB (Coptosapelta tomentosa Valetton ex K.Heyne) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *J Ilm Manuntung.* 2017;2(2):161