



UJI TOKSISITAS KITOSAN CANGKANG KERANG TAHU (*Meretrix meretrix L*) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

TOFU SHELLS CHITOSAN TOXICITY TEST (Meretrix meretrix L) WITH BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT) METHOD

Audry Pratiwi¹, Ridwanto Ridwanto^{1*}

ARTICLE INFO

Submitted: 25-11-2022

Revised: 31-12-2022

Accepted: 31-12-2022

¹Fakultas Farmasi, Universitas
Muslim Nusantara Al-Washliyah,
Medan

*Corresponding author (Ridwanto
Ridwanto)

Email: rid.fillah66@gmail.com

ABSTRAK

Kerang tahu (*Meretrix meretrix L*) merupakan salah satu sumber daya perikanan Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah Untuk mengetahui tingkat toksisitas kitosan dari cangkang Kerang tahu dengan melihat nilai LC_{50} yang diujikan pada metode BSLT. Penelitian ini meliputi Isolasi kitin dan kitosan: Deproteinasi, Demineralisasi, Depigmentasi dan deasetilasi kitin menjadi kitosan, karakterisasi kitosan, FTIR, dan Uji Toksisitas kitosan dengan menggunakan metode BSLT untuk melihat jumlah kematian larva *Artemia salina L* diperoleh data (LC_{50}). Hasil Penelitian menunjukkan bahwa Kitosan Cangkang Kerang tahu memiliki LC_{50} 4383.287934 $\mu\text{g/ml}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kitosan cangkang Kerang tahu bersifat tidak toksik ($LC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$) pada uji BSLT.

Key words: Kitosan, Kerang, Uji Toksisitas, BSLT

ABSTRACT

Tofu clams (*Meretrix meretrix L*) is one of Indonesia's fishery resources. The purpose of this study was to determine the toxicity level of chitosan from tofu clams by looking at the LC_{50} value tested on the BSLT method. This study included isolation of chitin and chitosan: Deproteinization, Demineralization, Depigmentation and deacetylation of chitin into chitosan, chitosan characterization, FTIR, and chitosan Toxicity Test using the BSLT method to see the number of deaths of *Artemia salina L* larvae obtained data (LC_{50}). The results showed that the Chitosan tofu clams had an LC_{50} of 4383.287934 $\mu\text{g/mL}$. The results showed that green clam shell chitosan (*Perna viridis L.*) was non-toxic ($LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$) in the BSLT test.

Key words: Chitosan, Shellfish, Toxicity Test, BSLT

1. PENDAHULUAN

Selama ini limbah cangkang kerang tahu hanya dimanfaatkan sebagai salah satu material hiasan dinding, hasil kerajinan, atau bahkan sebagai campuran pakan ternak. Pengolahan limbah tersebut tentunya belum mempunyai nilai tambah yang besar karena masih terbatas dari segi harga maupun jumlah produksinya. Salah satu alternatif upaya pemanfaatan limbah cangkang kerang tahu agar memiliki nilai dan daya guna limbah cangkang kerang tahu menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi adalah pengolahan menjadi kitin dan kitosan. Kitosan telah dikenal sebagai bahan tambahan dalam sediaan obat, sebagai bahan pelembab, pembuatan lensa kontak dan pengawet makanan. Kitosan memiliki gugus aktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba, mempercepat penyembuhan luka bakar, dan antioksidan (Rahayu dan Purnavita, 2007).

Namun demikian, jika kitosan akan digunakan itu harus bersifat biokompatibel, yang berarti itu dapat diterima oleh tubuh manusia, tidak beracun, tidak mengiritasi, non karsinogenik, dan juga aman tanpa menyebabkan reaksi

alergi. Prinsip untuk mengetahui suatu senyawa toksik atau memiliki kemampuan sitotoksik dapat dilakukan uji toksisitas. Secara *in vivo*, kematian suatu hewan percobaan dapat dipakai sebagai alat pemantau penapisan awal ketoksikan suatu zat kimia aktif suatu bahan alam terhadap ekstrak, fraksi maupun isolat. Salah satu metode yang digunakan untuk menentukan ketoksikan senyawa adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. *Artemia salina* Leach ini merupakan organisme sederhana, mudah berkembang biak dan menetas dalam kondisi normal laboratorium. Uji toksisitas ini dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik dan untuk meneliti batas keamanan yang terdapat dalam kitosan cangkang kerang tahu.

Berdasarkan uraian diatas, mendorong peneliti melakukan penelitian yang bertujuan untuk menguji Toksisitas Kitosan Kerang tahu (*Meretrix meretrix* L) Dengan Metode BSLT.

2. METODE

Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah cangkang kerang tahu yang didapatkan di daerah perbaungan kabupaten Serdang bedagai Provinsi Sumatera Utara.

Alat

Alat gelas, Magnetic Stirrer, Hot Plate, Oven (Mommert®), pH Meter, Tanur, Dekikator, Cawan Penguap, Krus Porselin, Kertas Saring, Corong, Timbangan Analitik (Newtech®), Instrumen FTIR (Shimadzu®).

Bahan

Cangkang Kerang tahu (*Meretrix meretrix* L.) , larutan NaOH, NaOCl 0,315%, larutan HCl, asam asetat 2%, aquadest.

Prosedur Kerja

Pembuatan Sampel

Cangkang Kerang tahu sebanyak 5 kg yang telah dicuci bersih kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari sampai benar-benar kering. Setelah kering, sampel dihaluskan dan diayak. Serbuk yang dihasilkan berukuran 100 mesh.

Isolasi kitosan

1. Deproteinasi

Cangkang Kerang tahu yang sudah dihaluskan hingga berukuran 100 mesh masing - masing sebanyak 200 g ditambahi larutan NaOH 3,5% dengan perbandingan 1:10 (b/v) antara sampel dengan pelarut. Campuran dimasukkan ke dalam gelas kimia, dipanaskan di hot plate pada suhu 60-70°C selama 2 jam sambil dilakukan pengadukan dengan kecepatan 50 rpm menggunakan magnetic stirrer. Padatan yang diperoleh dicuci dengan aquades beberapa kali sampai pH netral. Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 4 jam kemudian didinginkan dalam deksikator dan ditimbang (Arsyi et al., 2018).

2. Demineralisasi

Tahap demineralisasi menggunakan sampel yang sudah dideproteinasi ditambahi larutan HCl 1N dengan perbandingan 1:10 (b/v). Serbuk cangkang kerang dan larutan HCl 1N dicampur dalam gelas kimia kemudian dipanaskan di hot plate pada suhu 60-70°C selama 1 jam sambil dilakukan pengadukan dengan kecepatan 50 rpm menggunakan magnetic stirrer. Padatan yang diperoleh dicuci dengan aquades beberapa kali sampai pH netral. Padatan dikeringkan dalam oven pada temperature 60°C selama 4 jam, serbuk cangkang kerang yang diperoleh tanpa mineral kemudian didinginkan dalam deksikator kemudian ditimbang (Arsyi et al., 2018).

3. Depigmentasi

Residu kitin hasil demineralisasi ditambahkan NaOCl 0,315% (1:10 b/v). Kedua campuran tersebut dicampur dalam beaker glass kemudian dipanaskan di hot plate pada suhu 40°C lalu, diaduk selama 1 jam. kemudian disaring dan residu yang diperoleh dicuci dengan aquades hingga pH netral lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 80°C, kemudian didinginkan dalam deksikator, setelah itu hasil ditimbang (Dompeipen EJ, 2016).

4. Deasetilasi

Residu yang di peroleh dari proses depigmentasi (kitin) dilanjutkan dengan menambahkan NaOH 60% dengan perbandingan 1:20 (b/v) kemudian diaduk pada suhu 100°C selama 1 jam. Setelah dingin di saring endapan yang

diperoleh dicuci dengan aquades sampai pH netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam. Residu yang di peroleh setelah dikeringkan kemudian didinginkan dalam deksikator lalu ditimbang. Residu yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi secara kuantitatif dengan analisis FT-IR untuk membuktikan apakah benar senyawa kitosan yang terkandung didalamnya (Dompeipen EJ, 2016).

Karakterisasi Kitosan

1. Kadar Air

Sebanyak 0,5 gram kitosan dimasukkan kedalam cawan porselin yang diketahui berat kosongnya. Kitosan kemudian dioven pada suhu 100-105°C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam deksikator selama 30 menit lalu ditimbang. Perlakuan ini dilakukan hingga beratnya konstan (Fadli et al., 2017).

2. Kadar Abu

Sebanyak 0,5 gram kitosan dimasukkan kedalam krus porselin yang telah diketahui berat kosongnya. Kitosan dipijarkan dalam tanur hingga 500°C selama 3 jam. Kitosan yang telah diabukan dimasukkan kedalam deksikator selama 30 menit lalu ditimbang beratnya (Fadli et al., 2017).

3. Kelarutan Kitosan

Kelarutan kitosan merupakan suatu parameter yang dapat dijadikan sebagai acuan standar mutu dari kitosan. Semakin tinggi kelarutan kitosan maka mutu kitosan semakin baik. Kitosan dilarutkan dalam asam asetat dengan konsentrasi 2% dengan perbandingan 1:100 (g/ml) (Agustina et al., 2015).

Uji Toksisitas Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

1. Pembuatan Air Laut Buatan

Air laut buatan dibuat dengan cara melarutkan 38 gram garam tanpa iodium dalam 1 liter air, lalu diaduk sampai homogen. Kemudian disaring dengan kertas Whatman (Djamil & Anelia. T, 2009).

2. Penetasan Larva Artemia Salina

Penetasan telur dilakukan dengan cara menyiapkan wadah untuk meneteskan telur udang. Adapun wadah dibagi menjadi dua bagian, bagian gelap dan terang dengan menyekatnya dan diberi lubang pada sekatan. Kemudian ditambahkan dengan air laut buatan sebanyak 500 ml. Satu ruang dalam wadah tersebut diberi penerangan dengan cahaya lampu 40-60 watt agar suhu penetasan tetap terjaga 25°C-31°C. Sedangkan di ruang sebelahnya diberi air laut buatan tanpa penerangan ditutup dengan aluminium foil atau lakban hitam. Telur udang sebanyak 100 mg terlebih dahulu dicuci lalu ditaburkan dan direndam pada wadah berisi aquadest selama 1 jam, lalu ditiriskan kemudian telur dimasukkan ke dalam wadah yang sudah berisi air laut buatan, dibiarkan 2×24 jam sampai menetas menjadi larva yang aktif bergerak kemudian siap digunakan sebagai hewan uji (Widyasari et al., 2018).

3. Uji Toksisitas

Pada pembuatan larutan induk kitosan cangkang kerang tahu pada konsentrasi 1000 µg/ml dengan menimbang 0,1 g kitosan lalu dilarutkan dengan CH₃COOH 0,5% dalam 100 ml. Dari larutan induk ini diencerkan menjadi 5 konsentrasi untuk terlebih dahulu digunakan sebagai orientasi, yaitu konsentrasi 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, 1000 µg/ml. dan 1 vial digunakan untuk blanko, masing-masing dengan tiga kali pengulangan.

Disiapkan vial untuk pengujian, untuk masing-masing konsentrasi larutan uji membutuhkan 5 vial dan replikasi sebanyak 3 kali. Dalam 5 kelompok masing- masing vial terdiri dari 10 ekor larva udang yang telah diisi dengan sampel yang telah dilarutkan dengan air laut buatan sebanyak 10 ml. Kelompok satu (kontrol) diberi air laut buatan sebanyak 5 ml. Kelompok 2 diberi larutan kitosan kerang dengan konsentrasi 100 µg/ml. Kelompok 3 dengan konsentrasi 250 µg/ml. Kelompok 4 dengan konsentrasi 500 µg/ml. Kelompok 5 dengan konsentrasi 750 µg/ml. Kelompok 6 dengan konsentrasi 1000 µg/ml Masing-masing vial diletakkan di bawah penerangan lampu 40-60 watt. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva udang kemudian dibandingkan dengan kontrol. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati. Kriteria standar untuk menilai kematian larva udang adalah bila larva udang tidak menunjukkan pergerakan selama beberapa detik (Widyasari et al., 2018).

Analisa Data

Pengaruh kitosan terhadap larva *Artemia salina* Leach dilakukan dengan perhitungan analisis probit. Perhitungan dilakukan dengan membandingkan antara larva mati terhadap jumlah keseluruhan, sehingga diperoleh persen kematian dilihat dalam nilai tabel probit. Dari data tersebut akan diketahui nilai probit dimasukkan kedalam persamaan regresi, sehingga dapat nilai LC₅₀ (Fadli et al, 2019).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN Isolasi Kitin Menjadi Kitosan

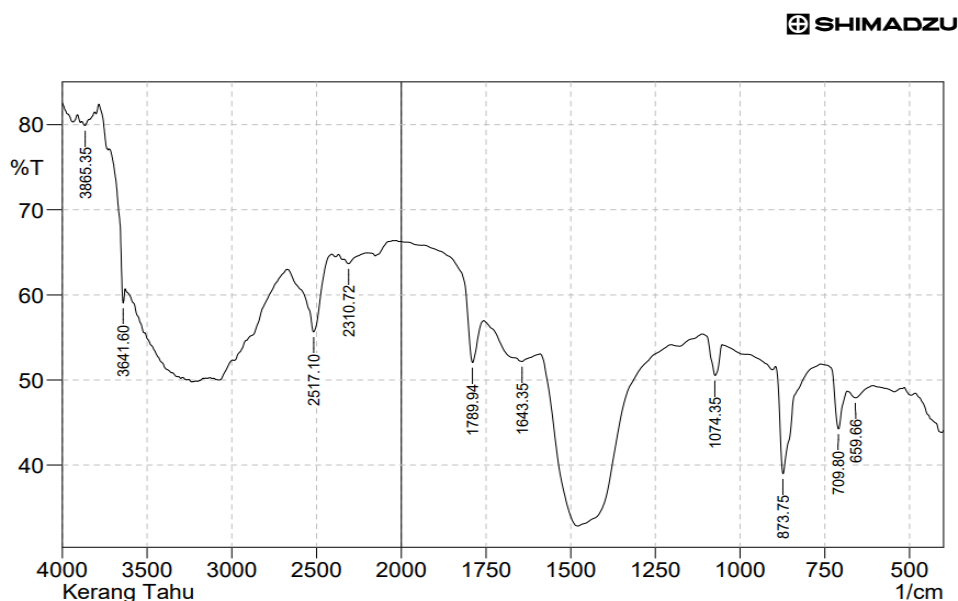
Serbuk cangkang kerang yang telah dipreparasi harus mengalami proses deproteinasi yang merupakan tahapan awal untuk mendapatkan kitosan. Pada proses pembuatan kitosan dilakukan tahap deproteinasi yang akan membentuk kitin terlebih dahulu dan bertujuan untuk memutuskan ikatan antara protein dan kitin dengan cara menambahkan pelarut NaOH (Puspitasari, E., & Rozirwan, M. H. 2018).

Proses selanjutnya yaitu Proses demineralisasi berpengaruh terhadap rendemen kitosan yaitu bahwa selain pengaruh konsentrasi pelarut yang tinggi, waktu perendaman cangkang kerang di dalam larutan HCl akan mempengaruhi penurunan kadar mineral pada proses pembuatan kitosan. Semakin lama waktu perendaman, maka akan menghasilkan semakin sedikit rendemen kitosan. Pada proses demineralisasi, terjadi proses penghilangan mineral utama yang terdapat pada cangkang kerang seperti kalsium karbonat (CaCO_3) dan fosfor menggunakan pelarut HCl. Tahap berikutnya yaitu Proses depigmentasi cangkang kerang tahu Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, terlepasnya pigmen warna yang terkandung dalam sampel ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna putih pada filtrat hasil depigmentasi. Proses depigmentasi merupakan tahap penghilangan (zat warna) pada sampel. penghilangan pigmen bertujuan untuk memberikan penampakan yang menarik pada produk kitosan yang dihasilkan.

Tahapan terakhir untuk mendapatkan kitosan disebut dengan proses deasetilasi. Pada proses tersebut, gugus asetil ($-\text{NHCOCH}_3$) pada kitin dihilangkan agar menjadi gugus amina. Proses deasetilasi kitin secara bertahap tidak memberikan pengaruh terhadap rendemen kitosan.

Hasil Analisa Gugus Fungsi Kitosan Menggunakan FTIR

Hasil pengujian FTIR, terlihat bahwa telah terjadi pemutusan gugus kitin menjadi kitosan, hasil analisis FTIR kitosan diperoleh daerah serapan gugus-gugus fungsional (Gambar 1.).



Gambar 1. Hasil Spektra Kitosan Kerang Tahu (*Meretrix meretrix* L)

Berdasarkan data spektra FTIR di atas dapat dilihat adanya pita serapan yang menunjukkan vibrasi dari gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam kitosan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pada uji kitosan kitosan kerang tahu hasil dari isolasi menggunakan spektrofotometri Inframerah menunjukkan adanya serapan pada bilangan gelombang pada sampel kitosan Sampel kitosan kerang tahu yaitu pada $3650\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ (rentang O-H) yaitu $3641,60$. Selanjutnya adanya serapan pada bilangan gelombang $1630\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$ (rentang C=O) yaitu $1643,35\text{ cm}^{-1}$. Lalu adanya serapan pada bilangan gelombang $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ (rentang C-O) yaitu $1074,35\text{ cm}^{-1}$.

Karakterisasi Kitosan

Kitosan yang diperoleh dikarakterisasi untuk mengetahui mutu kitosan yang dihasilkan. Karakterisasi yang dilakukan meliputi pemeriksaan organoleptis (tekstur, warna, dan bau), uji kadar air, uji kadar abu, kelarutan dalam asam asetat 2%. Hasil karakterisasi kitosan yang diperoleh dari penelitian dibandingkan dengan mutu SNI No. 7949 Tahun 2013 (Tabel 1.).

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Kitosan

Parameter	Hasil Isolasi Kerang Tahu	Standar Nasional Indonesia (SNI 7949:2013)
Organoleptis		
- Warna	- Putih	- Coklat muda sampai putih
- Tekstur	- Serpihan Halus	- Serpihan dan serbuk halus
- Bau	- Tidak Berbau	- Tidak berbau
Kadar Air	- 1,54%	- ≤ 12%
Kadar Abu	- 1,93%	- ≤ 5%
Kelarutan Kitosan dalam asam	- Larut	- Larut
Derajat Deasetilasi	- 88,75%	Minimal 75%

Uji Toksisitas

Uji toksisitas adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas suatu senyawa. Penelitian ini menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) karena metode ini merupakan salah satu metode yang banyak digunakan, murah, cepat, mudah (tidak memerlukan kondisi aseptik) dan dapat diandalkan.

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) ini juga dapat dilihat efek toksisitas pada kitosan kerang tahu terhadap larva *Artemia salina* dalam selang waktu 24 jam dengan konsentrasi yang digunakan adalah 100 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 750 µg/ml, dan 1000 µg/ml. Perbedaan konsentrasi ini dimaksudkan untuk melihat tingkat aktivitas dari kitosan kerang tahu terhadap kematian larva *Artemia salina*.

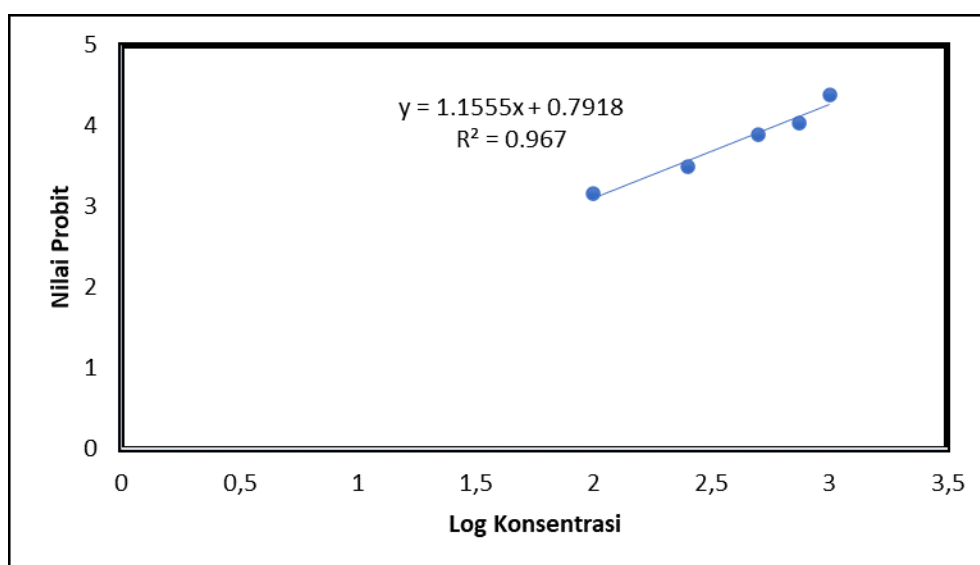
Hasil yang diperoleh yaitu semakin tinggi konsentrasi semakin besar persen kematian larva udangnya (Tabel 2.). Selain itu dibuat kontrol negatif berupa air laut dan larva udang tanpa adanya penambahan kitosan untuk menguji pengaruh air laut maupun faktor lain yang berpengaruh terhadap kematian larva. Sehingga dapat dipastikan bahwa kematian larva hanya karena pengaruh kitosan yang ditambahkan.

Tabel 2. Persentase Kematian Larva pada Kitosan Kerang Tahu

Jumlah Replikasi	Jumlah Kematian Larva Tiap Konsentrasi					Kontrol
	P1 (100 µg/ml)	P2 (250 µg/ml)	P3 (500 µg/ml)	P4 (750 µg/ml)	P5 (1000 µg/ml)	
1	1	1	1	2	3	0
2	0	1	1	1	2	0
3	0	0	2	2	3	0
Total Kematian	1	2	4	5	8	0
Rata-Rata	0,33	0,66	1,33	1,66	2,66	0
Persentase Kematian (%)	3,3	6,6	13,3	16,6	26,6	0

Berdasarkan data diatas (Tabel 2.) jumlah larva yang digunakan tiap perlakuan adalah 10 ekor larva dengan 3 kali perlakuan, sehingga total 30 ekor untuk satu konsentrasi. Pada tabel 2 dapat diketahui persentase mortalitas dari konsentrasi yang paling rendah 100 µg/ml dan konsentrasi paling tinggi terdapat pada konsentrasi 1000 µg/ml mempunyai persentase pada kitosan kerang tahu yaitu 26.6 % Sedangkan pada blanko tidak memberikan mortalitas terhadap larva. Hal tersebut menunjukkan bahwa setiap konsentrasi memiliki pengaruh yang berbeda pada kematian larva *A. salina*, semakin tinggi konsentrasi yang dibuat maka semakin tinggi pula kematian larva (Supriningrum, 2017).

Data yang diperoleh pada tabel 2 tersebut, kemudian dianalisis dengan menggunakan tabel analisis probit untuk mendapat nilai LC_{50} . *Lethal concentration 50* (LC_{50}) adalah besarnya konsentrasi yang dapat membunuh hewan percobaan sebanyak 50% dari keseluruhannya. Nilai LC_{50} dapat dihitung dengan persamaan regresi garis lurus tersebut dengan memasukkan nilai (probit 50% kematian hewan uji) sebagai y sehingga dihasilkan x sebagai nilai log konsentrasi. Antilog nilai x tersebut merupakan nilai LC_{50} . Parameter yang ditunjukkan untuk mengetahui adanya aktivitas biologis pada suatu senyawa terhadap hewan uji ialah dengan menghitung jumlah larva yang mati karena pengaruh pemberian senyawa dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Analisis probit dapat diketahui grafik persamaan garis lurus $y = 1,1555x + 0,7918$ dari data hasil toksisitas kitosan cangkang kerang tahu (Gambar 2.)



Gambar 2. Kurva Korelasi Persentase Kematian Larva Dengan Kitosan Kerang Tahu Log Konsentrasi.

Grafik diatas (Gambar 2.) menunjukkan log konsentrasi terhadap nilai probit yang disapat dari persentase kematian larva. Setelah itu dimasukkan nilai y yakni nilai probit 50% hewan uji dan didapatkan nilai x = 3,6414, maka nilai LC_{50} antilog yaitu 4383.287934 µg/ml.

Suatu senyawa dikatakan bersifat toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000\mu\text{g/ml}$. Dan apabila suatu senyawa memiliki nilai $LC_{50} > 1000\mu\text{g/ml}$, maka senyawa tersebut tidak berpotensi toksik (Mayer, 1982) . Nilai LC_{50} yang tinggi dan bersifat tidak toksik ini dikarenakan rendahnya mortalitas larva *Artemia salina* pada tiap konsentrasi, yaitu pada konsentrasi ini mortalitas tidak mencapai sebesar 50 % dari jumlah larva yang ujikan.

4. KESIMPULAN

Kitosan yang terkandung di dalam cangkang Kerang Tahu didapat % derajat deasetilasinya pada kitosan kerang tahu yaitu sebesar 88,75% yang menyatakan bahwa memenuhi persyaratan yang ditetapkan di dalam SNI. Nilai LC_{50} yang di peroleh dari Kitosan Kerang Tahu sebesar 4383.287934 µg/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kitosan tersebut tidak mempunyai efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan Terima kasih Kepada Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan yang telah membantu dalam proses pelaksanaan penelitian ini

6. DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., Swantara, I., & Suartha, I. (2015). Isolasi Kitin, Karakterisasi, Dan Sintesis Kitosan Dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia*, 9(2), 271–278.
- Arsyi, N. Z., Nurjannah, E., Ahlina, D.N., & Budiyati, E. (2018). Karakterisasi Nano Kitosan dari Cangkang Kerang Hijau dengan Metode Gelasi Ionik. *Jurnal Teknologi Bahan Alam*, 2(2), 106–111.
- Djamil, R., & Anelia. T. (2009). Penapisan Fitokimia Uji BSLT dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7(2), 65–71.
- Dompeipen, E. J., Kaimudin, M., Dewa Balai Riset dan Standarisasi Industri Ambon, R. P., Cengkeh, J., & Merah Ambon, B. (2016). Isolasi Kitin Dan Kitosan Dari Limbah Kulit Udang Isolation. *Majalah BIAM*, 12(1), 32–39.
- Fadli, A., Drastinawati, Alexander, O., & Huda, F. (2017). Disintesis Dari Limbah Industri Udang Kering. *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 1, 61–67.
- Mayer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, D.E., dan C.Laughlin, J. . (1982). Brine Shrimp: A Conveint General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Planta Medica*, 45(5), 31–34.
- Puspitasari, E., & Rozirwan, M. H. (2018, Jun). Uji Toksisitas Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) Pada Ekstrak Mangrove (*Avicennia marina*, *Rhizophora mucronata*, *Sonneratia alba* dan *Xylocarpus granatum*) yang berasal dari Banyuasin, Sumatera Selatan. *Jurnal Biologi Tropis*, 18(1), 91-103.
- Rahayu LH dan Purnavita (2007). Optimasi Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) Untuk adsorben ion logam merkuri. *Reaktor*, 11 (1), 45-49
- Sinardi, Prayatni Soewondo, & Suprihanto Notodarmojo. (2013). Pembuatan, Karakterisasi Dan Aplikasi Kitosan Dari Cangkang Kerang Hijau (*Mytilus Virdis Linneaus*) Sebagai Koagulan Penjernih Air. 1(October 2017).
- Supriningrum, R., Sapri, S., & Pranamala, V.A (2017). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Akar KB (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal ilmiah manuntung*, 2(2), 161-165.
- Widyasari, R., Yuspitasari, D., Wildaniah, W., & Cahayuni, R. (2018). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) Terhadap Larva *Artemia salina* L. Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 3(1), 51–58.