

AKTIFITAS *BRINE SHRIMP LETHALITY* DARI *STROBILANTHES CRISPUS* DAN *SONCHUS ARVENSIS* SEBAGAI TANAMAN OBAT

BRINE SHRIMP LETHALITY ACTIVITY OF *STROBILANTHES CRISPUS* AND *SONCHUS ARVENSIS* AS MEDICINAL PLANTS

Afrizal Itam*, Rusma Yanti, Arrijal Mustakim, Bustanul Arifin dan Mai Efdi

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas,
Kampus Limau Manis, Padang, 25163

*E-mail : afrizalitam@yahoo.com

ABSTRACT

Brine shrimp lethality assay is a method for preliminary assessment of cytotoxicity of drug or drug substances. In this study, brine shrimp lethality assay have been done to various *Strobilanthes crispus* and *Sonchus arvensis* leaves extracts. Brine shrimp lethality activities (LC_{50}) of hexane, ethyl acetate, methanol and aqueous extracts of *S. crispus* were 302.36; 240.96; 25.87 and 402.17 mg/L, respectively, while LC_{50} of hexane, ethyl acetate, methanol and aqueous extracts of *S. arvensis* were 413.04; 2,517.68; 403.65 and 125035 mg/L, respectively. These results showed that the highest brine shrimp lethality activity was methanol extract either *S. crispus* or *S. arvensis*. Furthermore, methanol extract is fractionated with hexane, ethyl acetate and water, and then these fractions have been done brine shrimp lethality assay. The results were LC_{50} of hexane, ethyl acetate, and aqueous fractions of *S. crispus* methanol extract were 127.06; 245.47 and 411.15 mg/L, respectively, while LC_{50} of hexane, ethyl acetate, and aqueous fractions of *S. arvensis* methanol extract were 939.73; 440.55 and 269.77 mg/L, respectively.

Keyword: *Strobilanthes crispus*, *Sonchus arvensis*, Brine shrimp lethality activity, cytotoxicity

ABSTRAK

Uji *brine shrimp lethality* merupakan salah satu metode untuk penilaian awal terhadap sitotoksitas suatu obat atau bahan obat. Pada penelitian ini uji *brine shrimp lethality* dilakukan terhadap bermacam ekstrak daun *Strobilanthes crispus* dan *Sonchus arvensis*. Aktifitas *brine shrimp lethality* (LC_{50}) dari ekstrak heksana, etil asetat, metanol dan air dari *S. crispus* berturut-turut adalah 302,36; 240,96; 25,87 dan 402,17 mg/L, sedangkan LC_{50} ekstrak heksana, etil asetat, metanol dan air dari *S. arvensis* berturut-turut adalah 413,04; 2.517,68; 403,65 dan 125.025 mg/L. Hasil ini menunjukkan bahwa aktifitas *brine shrimp lethality* yang paling tinggi adalah ekstrak metanol baik *S. crispus* maupun *S. arvensis*. Selanjutnya ekstrak metanol ini difraksinasi dengan heksana, etil asetat dan air, kemudian masing-masing fraksi dilakukan juga uji *brine shrimp lethality*. Hasilnya adalah LC_{50} fraksi heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak metanol *S. crispus* berturut-turut adalah 127,06; 245,47 dan 411,15 mg/L, sedangkan LC_{50} fraksi heksana, etil asetat dan air dari ekstrak metanol *S. arvensis* berturut-turut adalah 939,73; 440,55 dan 269,77 mg/L.

Katakunci: *Strobilanthes crispus*, *Sonchus arvensis*, Aktifitas *brine shrimp lethality*, sitotoksitas

1. PENDAHULUAN

Strobilanthes crispus dan *Sonchus arvensis* merupakan tumbuhan obat tradisional yang biasanya digunakan untuk masalah saluran kencing yang disebut sebagai zat diuretik, litotriptik, antiurolithiasis, antilitik, dan laxative [1], [2], [3]. Ekstrak dari kedua tumbuhan ini dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan kristal kalsium oksalat yang merupakan salah satu komponen penyusun batu ginjal [4], [5].

S. crispus merupakan suatu tanaman yang dapat tumbuh liar di hutan, di tepi sungai atau di tebing-tebing dan biasanya ditanam sebagai pagar hidup pekarangan atau taman-taman. Tanaman ini tumbuh pada ketinggian 50 - 1200 m di atas permukaan laut, merupakan tanaman semak dengan tinggi 1 – 2 m. *S. crispus* ini mudah dibudidayakan dengan stek batang atau cabang yang cukup tua. Nama daerah tumbuhan ini antara lain adalah daun picah beling (Jakarta), enyoh kelo, kecibeling, kejibeling, ngokilo (Jawa), pecah kaca atau jin batu (Malay). Sinonim *S. crispus* L adalah *Sericocalyx crispus* L. [6], [7]. Tumbuhan ini dilaporkan bahwa ekstrak daunnya menunjukkan sifat antioksidan [8], [9], anti hepatokarsinogenesis terhadap tikus [10], mengurangi glukosa darah pada tikus hiperglikemik dan pada tikus normal serta memperbaiki profil lipid [7], dan pengaruh sitotoksik terhadap kanker kolon (Caco-2), kanker payudara (MDA-MB-231) dan kanker hati (HepG-2) [11]. Selanjutnya penelitian lain juga melaporkan bahwa ekstrak tumbuhan ini memiliki aktifitas sitotoksik terhadap sel kanker manusia (MCF7, T-47D, HCT 116, Hep G2) dan NCI-H23) [12].

Tumbuhan *S. crispus* mengandung bermacam-macam komponen antara lain verbakosida, ester glikosida dari asam kafeat dan tujuh asam-asam fenolat, asam p-hidroksi benzoat, asam p-kumarat, asam kafeat, asam vanilat, asam gentinat, asam ferulat, dan asam siringat [13], [14], tannin, saponin, garam-garam kalsium, natrium dan silikat [6], β -sitosterol dan stigmasterol [11].

S. arvensis juga merupakan tumbuhan liar yang tumbuh di daerah yang banyak hujan dengan ketinggian 50 –1.650 m di atas permukaan laut. Tumbuhnya di tempat terbuka, terkena sinar matahari atau sedikit kenaungan, tingginya tumbuhan ini 1–2 m dengan akar tunggang yang kokoh. Tumbuhan ini mudah diperbanyak dengan menggunakan bijinya. Tumbuhan ini mempunyai nama daerah berbeda-beda, antara lain lempung, rayana, jombang, galibug dan lalakina (Sunda), tempuyung (Jawa). Niu she tou (China), Laitron des champs (France), Sow thistle (British) [1], [6], [15], [2], [16]. Daun *S. arvensis* ini telah diisolasi dan diidentifikasi bermacam-macam senyawa, antara lain luteolin-7-O-glukosida [17], isocinarosida [18], luteolin-7-O-glukosida, linarin [19], kuersetin, isorhamnetin, chrysoeriol, isorhamnetin-7- β -D-glukosida, kuersetin-7- β -D-glukopyranosida [20], sonchosida [21], apigenin, luteolin-7-O-glucoside [22], acacetin,

kaempferol, chrysoeriol, luteolin, isorhamnetin [23], quercetin-3-O- α -L-rhamnoside, kaempferol-3,7- α -L-dirhamnoside [24], α -amyrin, β -amyrin, lupeol, taraxasterol (lactuserol), pseudo-taraxasterol [25].

Pada penelitian ini dilaporkan aktifitas *brine shrimp lethality* dari kedua ekstrak tumbuhan ini yang bertujuan untuk menentukan sifat sitotoksiknya yang berpotensi sebagai antikanker. Sitotoksik adalah suatu sifat biasanya obat atau zat kimia yang memberikan pengaruh terhadap sell, umumnya digunakan dalam kemoterapi untuk menghambat perkembangbiakan sel kanker. Aktifitas sitotoksik ini ditentukan dengan metode *Brine Shrimp (Artemia salina) lethality bioassay*.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Persiapan Sampel

Sampel daun *S. crispus* dan *S. arvensis* diambil di Kota Padang, Sumatera Barat. Sampel diidentifikasi, dibersihkan dan kemudian dikering-anginkan pada udara terbuka yang tidak terkena cahaya matahari secara langsung. Setelah itu sampel dihaluskan sampai berupa serbuk

2.2. Bahan Kimia dan Pereaksi

Bahan kimia yang digunakan adalah metanol, etil asetat dan n-heksana merupakan hasil distilasi yang diproduksi oleh Brataco dan akuades merupakan hasil distilasi. metanol p.a. dan telur udang *Artemia salina*, air laut, dan dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck)

2.3. Peralatan

Peralatan yang digunakan maserator, *rotary evaporator* (Heidolph WB 2000), wadah pembiakan larva, aerator (pembentuk gelembung udara), pipet mikro, pipet tetes, dan vial.

2.4. Pengujian Sitotoksitas dengan Metode *Brine Shrimp*

2.4.1. Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 50 gram masing-masing sampel kering yang telah berupa serbuk dimaserasi dengan heksana, etil asetat, metanol dan air (masing-masing 200 mL) secara terpisah. Maserasi dilakukan berulang-ulang sampai filtratnya tidak atau sedikit berwarna. Setelah disaring, filtrat digabungkan dan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan empat macam ekstrak yaitu ekstrak heksana, etil asetat, metanol dan air. Masing-masing ekstrak ini diuji sitotoksitasnya.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak metanol dari kedua sampel merupakan ekstrak yang mempunyai sifat sitotoksik yang paling tinggi, maka terhadap ekstrak metanol ini dilakukan fraksinasi dengan heksana, etil asetat dan air (fraksi sisa).

Kemudian ketiga fraksi diuapkan pelarutnya dan selanjutnya dilakukan uji sitotoksitasnya

2.4.2. Persiapan Larva *Artemia salina*

Air laut yang telah disaring dimasukkan ke dalam wadah pembiakan yang terdiri atas dua bagian yaitu bagian terang dan bagian gelap. Telur *Artemia salina* dimasukkan ke dalam wadah pembiakan pada bagian gelap dan dibiarkan selama 48 jam hingga terbentuk larva *Artemia salina*. Selanjutnya larva *Artemia salina* ini digunakan untuk uji sitotoksitas.

2.4.3. Pengujian sitotoksitas

Pengujian sitotoksitas dilakukan berdasarkan pada metode Meyer, B. N. et. al. (1982) [26] dan Mudi, S. Y. et al, (2009) [27] dengan modifikasi. Sebanyak 100 mg masing-masing ekstrak heksana, etil asetat, metanol dan air dilarutkan dalam metanol sampai volume 100 mL, diperoleh konsentrasi larutan induk 1000 µg/mL. Dari larutan induk ini dibuat bermacam variasi konsentrasi larutan. Konsentrasi larutan ekstrak *S. crispus* adalah 50, 100, 150, 200 dan 250 mg/L, sedangkan konsentrasi ekstrak *S. arvensis* adalah 200, 400, 600, 800, dan 1000 mg/L. Selanjutnya pelarut metanolnya diuapkan. Setelah itu ditambahkan 50 µL DMSO dan 2 mL air laut. Setelah itu sebanyak 10 ekor larva udang yang telah ditetaskan tadi dimasukkan ke dalam larutan uji. Setelah itu, volume masing-masing larutan dicukupkan hingga 5 mL dengan air laut. Sebagai kontrol digunakan 50 µL DMSO ditambah dengan air laut sampai volume 5 mL. Jumlah larva yang mati dihitung setelah 24 jam. Nilai LC₅₀ dihitung menggunakan uji probit dan persamaan regresi. Uji sitotoksitas dari fraksi heksana, etil asetat dan air (sisa) ekstrak metanol dilakukan dengan cara dan variasi konsentrasi yang sama dengan ekstrak masing-masing sampel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji sitotoksitas dilakukan terhadap ekstrak heksana, etil asetat, metanol dan air. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari kedua sampel mempunyai sifat sitotoksik yang paling tinggi, maka selanjutnya ekstrak metanol ini difraksinasi dengan heksana, etil asetat dan air (sisa). Kemudian ketiga fraksi ini dilakukan juga uji sitotoksitasnya. Hasil uji sitotoksitas terhadap larva udang *Artemia salina* dari ekstrak *S. crispus* ditunjukkan pada Tabel 1 dan 2, sedangkan uji sitotoksitas dari ekstrak *S. arvensis* ditunjukkan pada Tabel 3 dan 4. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula persen kematian larva udang baik ekstrak *S. crispus* maupun ekstrak *S. arvensis*. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Meyer, B. N et. al (1982) [26].

Sifat sitotoksik dari suatu bahan alam atau obat ditentukan oleh LC_{50} . Jika LC_{50} kecil dari 100 mg/L dikategorikan bahwa sifat sitotoksiknya kuat, 100-500 mg/L dikategorikan sifat sitotoksiknya sedang, dan 500-1000 mg/L dikategorikan sifat sitotoksiknya lemah, sementara kalau besar dari 1000 mg/L dikategorikan non toksik [28].

Tabel 1 Hasil uji sitotoksisitas terhadap bermacam ekstrak daun *S. crispus* dengan metode *Brine Shrimp*

No	Ekstrak	Konsentrasi (mg/L)	Kematian (%)	LC_{50} (mg/L)
1	Heksana	50	25	302,36
		100	25	
		150	30	
		200	40	
		250	45	
2	Etil asetat	50	30	240,96
		100	30	
		150	30	
		200	35	
		250	55	
3	Metanol	50	60	25,67
		100	60	
		150	65	
		200	70	
		250	80	
4	Air	50	15	402,17
		100	15	
		150	15	
		200	25	
		250	30	
5	Kontrol	0	0	

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai LC_{50} dari ekstrak metanol *S. crispus* adalah 25,67 mg/L. Ini berarti bahwa ekstrak metanol mempunyai aktifitas sitotoksik yang kuat. Ekstrak heksana, etil asetat dan air berturut-turut 302,36; 240,96 dan 402,17 mg/L. Ini menunjukkan bahwa ketiga ekstrak ini mempunyai sifat sitotoksik sedang.

Tabel 2. Hasil uji sitotoksisitas fraksi heksana, etil asetat dan air (sisa) dari ekstrak metanol *S. crispus* dengan metode *Brine Shrimp*

No	Fraksi dari ekstrak metanol	Konsentrasi (mg/L)	Kematian (%)	LC ₅₀ (mg/L)
1	Heksana	50	26,66	127,06
		100	46,66	
		150	50,00	
		200	63,33	
		250	66,66	
2	Etil asetat	50	20,00	245,47
		100	36,66	
		150	40,00	
		200	46,66	
		250	46,66	
3	Air (sisa)	50	20,00	411,15
		100	23,33	
		150	30,00	
		200	40,00	
		250	43,33	
4	Kontrol	0	0	

Tabel 2 menunjukkan bahwa kesemua fraksi dari ekstrak metanol *S. crispus* mempunyai sifat sitotoksik sedang (LC₅₀ 100-500 mg/L).

Tabel 3 Hasil uji sitotoksisitas terhadap bermacam ekstrak daun *S. arvensis* dengan metode *Brine Shrimp*

No	Ekstrak	Konsentrasi (mg/L)	Kematian (%)	LC ₅₀ (mg/L)
1	Heksana	200	55	413,04
		400	50	
		600	50	
		800	45	
		1000	40	
2	Etil asetat	200	35	2.517,68
		400	35	
		600	45	
		800	40	
		1000	45	
3	Metanol	200	45	403,65
		400	45	
		600	55	
		800	55	
		1000	65	
4	Air	200	15	125.025
		400	20	
		600	10	
		800	30	
		1000	20	
5	Kontrol	0	0	

Tabel 4. Hasil uji sitotoksitas fraksi heksana, etil asetat dan air (sisa) dari ekstrak metanol *S. arvensis* dengan metode *Brine Shrimp*

No	Fraksi dari ekstrak metanol	Konsentrasi (mg/L)	Kematian (%)	LC ₅₀ (mg/L)
1	Heksana	200	45	939,73
		400	45	
		600	40	
		800	50	
		1000	55	
2	Etil asetat	200	35	440,55
		400	55	
		600	45	
		800	65	
		1000	65	
3	Air (sisa)	200	45	269,77
		400	60	
		600	60	
		800	65	
		1000	75	
4	Kontrol	0	0	

Pada Tabel 3 terlihat bahwa ekstrak heksana dan metanol *S arvensis* mempunyai sifat sitotoksik sedang (LC₅₀ 302,36 dan 403,65 mg/L), sedangkan ekstrak etil asetat dan air bersifat non toksik (LC₅₀ 2.517,68 dan 125.025 mg/L). Sifat sitotoksik fraksi heksana dari ekstrak metanol lemah (LC₅₀ 939,73 mg/L) sedangkan sifat sitotoksik fraksi etil asetat dan air (sisa) dari ekstrak metanol sedang (LC₅₀ 440,55 dan 269,77mg/L)

4. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sifat sitotoksik dari ekstrak atau fraksi dari *S. crispus* dan *S arvensis* terhadap larva udang *Artemia salina* berbeda-beda. Ekstrak metanol daun *S. crispus* mempunyai aktifitas sitotoksik yang kuat, sedangkan ekstrak heksana, etil asetat dan air mempunyai sifat sitotoksik sedang. Fraksinasi terhadap ekstrak metanol *S. crispus* ini yaitu fraksi heksana, etil asetat dan air (sisa) mempunyai sifat sitotoksik sedang. Ekstrak heksana dan metanol daun *S arvensis* sifat sitotoksiknya sedang, sedangkan ekstrak etil asetat dan air bersifat non toksik. Fraksinasi terhadap ekstrak metanol *S arvensis* ini yaitu fraksi heksana sifat sitotoksiknya lemah sedangkan fraksi etil asetat dan air (sisa) sifat sitotoksiknya sedang.

5. PUSTAKA

- [1]. Dalimartha, S. (2001) *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, edisi 1, Jakarta: Trubus Agriwidya, Pp. 158–161.
- [2]. Syamsuhidayat, S. S. and Hutapea, J. R. (1991)² *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, edisi 1, Jakarta: Departemen Kesehatan RI, Pp. 536–537.
- [3]. Perry, L. M. and Metzger, J. (1980) *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*, Cambridge, Massachusetts, London, England: Massachusetts Institute of Technology, 620p.
- [4]. Afrizal I, Zhari I dan Abdul Majid A. M. S., (2009) *In Vitro* Studies on Calcium Oxalate Crystal Growth Inhibition of *Strobilanthes crispus* Extracts, *Jurnal Riset Kimia*, 3 (1), 8-11.
- [5]. Afrizal I, Zhari I., dan Abdul Majid, A. M. S. (2011), Uji Aktifitas Ekstrak Air *Sonchus arvensis* Terhadap Pertumbuhan Kristal Kalsium Oksalat, Seminar dan Rapat Tahunan BKS-PTN Wilayah Barat ke 24.
- [6]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1977)¹ *Materia Medika Indonesia*, edisi 1, Jakarta, Pp. 95–99.
- [7]. Fadzelly, M. A. B., Asmah, R. and Fauziah, O. (2006), Effect of *Strobilanthes crispus* Tea Aqueous Extracts on Glucose and Lipid Profile in Normal and Streptozotocin-Induced Hyperglycemic Rats, *Plants Foods for Human Nutrition, Springer Sciences Bussines Media, Inc.*, 61, 6-11.
- [8]. Ismail, M., Manickam, E., Danial, A. M., Rahmat, A. and Yahaya, A. (2000) Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Strobilanthes crispus* Leaf Extract, *Journal of Nutrition Biochemistry*, 11, 536-542.
- [9]. Afrizal I., and Zhari I., (2007), Antioxidant Activities and HPTLC Profile of *Strobilanthes crispus* L. Leaf Extracts, Presented in The 9th International Seminar on The Role of Chemistry in Industry and Environment, Padang, West Sumatera, Indonesia.
- [10]. Jaksa, S., Rahmat, A., Othman, F., Ismail, P. and Mansor, S. M. (2004), Cancer Induction and Effect *Strobilanthes crispus* Leaf Extracts on Liver Histology and Enzyme Change in Rats, *Journal Tropical Medicinal Plants*, 5, 187-192..
- [11]. Rahmat, A., Edrini, S., Akim, A. Md., Ismail, P., Yap Yun Hin, T. and Abu Bakar, M. F., (2006) Anticarcinogenic Properties of *Strobilanthes crispus* Extracts and its Compounds *in vitro*, *International Journal of Cancer Research*, 2 (1), 47– 49.
- [12]. Muslim, N. S., K. W. Ng, A. Itam, Z. D., Nassar, Z. Ismail, and A.M.S. Abdul Majid (2010), Evaluation of Cytotoxic, Antiangiogenic and Antioxidant Properties of Standardized Extracts of *Strobilanthes crispus* Leaves.

- [13]. Soediro, I., Pellcuier, J., Andary, C. and Privat, G. (1983) *Strobilanthes crispus*, (L) BL. I. Isolation and Identification of the caffeic acid derivative, verbascoside, 99: 50302q, *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 8, 1-10.
- [14]. Soediro, I., Pellcuier, J., Andary, C. and Privat, G. (1988) Identification of phenolic acid in *Strobilanthes crispus* (L) BL., 108: 147193x, *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 12, 1-7.
- [15]. Sulaksana, J., Santoso, B. and Jayusman, D. I. (2004) *Tempuyung, Budidaya dan Pemanfaatan untuk Obat*, Jakarta: Penebar Swadaya, Pp. 31-33.
- [16]. Wijayakusuma, H., Dalimartha, S. and Wirian, A. S. (2000) *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*, edisi 1, Jakarta: Pustaka Kartini, Pp. 71-73.
- [17]. Bondarenko, V.G., Glyzin, V.I. and Shelyuto, V.L. (1973) Flavonoids of *Sonchus arvensis* flowers, Chemical Abstract, 1974, 80: 118201w, *Khim. Prir. Soedin*, 9 (4), 554-555.
- [18]. Bondarenko, V.G., Glyzin V.I., Ban'kovskii, A.I. and Shelyuto, V.L. (1974) Isocinaroside, a new flavone glycoside from *Sonchus arvensis*, Chemical Abstract, 1975, 82: 86556p, *Khim. Prir. Soedin.*, (4), 665.
- [19]. Bondarenko, V. G., Shelyuto, V. L., Glyzin, V. I. and Khoron'ko, A. T. (1975) Flavonoids of *Sonchus arvensis* L, Chemical Abstract, 1978, 88: 186099j, *Fitokhim. Izuch. Flory BSSR Biofarma. Issled. Lek. Prep.* , 91-92.
- [20]. Bondarenko, V.G., Glyzin, V.I., Shelyuto, V.L. and Smirnova, L.P. (1976) Flavonoids of *Sonchus arvensis*, Chemical Abstract, 1977, 86: 86101u, *Khim. Prir. Soedin.*, (4), 542.
- [21]. Bondarenko, V. G., Glyzin, V. I. and Shelyuto, V. L. (1978) Sonchoside as a new flavonoids from *Sonchus arvenise*, Chemical Abstract, 1978, 89: 143361s, *Khim. Prir. Soedin.* (3), 403.
- [22]. Qu, Guirong, Wang Suxian, Wu Li Jun, and Li Xian (1993) Chemical constituents of *Sonchus arvensis*, Chemical Abstract, 1993, 119: 4959t, *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 18 (2), 101-102.
- [23]. Qu, Guirong, Liu Jian, Li Xinxin, Wang Suxian, Wu Li Jun, and Li Xian (1995) Flavonoids of lieyejumaicai (*Sonchus arvensis*), Chemical Abstract, 1995, 123: 79557b, *Zhongcaoyao*, 26 (5), 233-235.
- [24]. Qu, Guirong, Li Xinxin, and Liu Jian (1996) Studie on flavonol glycosides of *Sonchus arvensis*, Chemical Abstract, 1996, 125: 323027h, *Zhongguo Zhongyao Zazhi*, 21 (5), 292-294.
- [25]. Hooper, S.N, Chandler, R. F., Lewis, E. and Jamieson, W. D. (1982) Simultaneous Determination of *Sonchus arvensis* L. Triterpenes by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Lipids*, 17, 60-63.

- [26]. Meyer, B. N., Ferrigni, N. R. Putnam, J. E., Jacobson, L. B., Nichols, D. E. and McLaughlin, 1982, Brine Shrimp; A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *J. of Medicinal Plant Research, Planta Medica*, Vol. 45, 31-34.
- [27]. Mudi, S. Y. dan Salisu, A, 2009, Studies on brine shrimp lethality and activity of stem bark extract of *Acacia senegal* l. On respiratory tract pathogenic bacteria, *International Journal of Biomedical and Health Sciences*, Vol. 5, No. 3, 139-143.
- [28]. Nguta, J. M., Mbaria, J. M., Gakuya, D. W., Gathumbi P.K., Kabasa, J.D and Kiama, S. G (2012), Evaluation of Acute Toxicity of Crude Plant Extracts from Kenyan Biodiversity using Brine Shrimp, *Artemia salina* L. (Artemiidae), *The Open Conference Proceedings Journal*, 2012, 3, 30-34