

## STUDI TOKSISITAS INFUSA RIMPANG PACING (*Costus speciosus*) DENGAN PENDEKATAN BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

Benazir Evita Rukaya<sup>\*</sup>, Syuhada, Fajar Wahyu

Program Studi Ilmu Farmasi, Politeknik Kaltara, Kota Tarakan, 77113, Indonesia

<sup>\*</sup> Corresponding author: Benazir Evita Rukaya  
email: [benazir\\_firdaus@yahoo.com](mailto:benazir_firdaus@yahoo.com)

Received January 01, 2025; Accepted February 18, 2025; Published March 16, 2025

### ABSTRAK

*Costus speciosus* atau Pacing, merupakan tanaman herbal yang telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional di berbagai negara Asia. Tanaman ini dilaporkan memiliki aktivitas biologis seperti antidiabetes, antiinflamasi, dan antikanker. Namun, informasi mengenai toksisitasnya masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas infusa rimpang *Costus speciosus* menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini memanfaatkan larva *Artemia salina* Leach sebagai organisme model untuk menilai potensi toksisitas. Rimpang pacing diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid yang memiliki potensi farmakologis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infusa rimpang pacing memiliki toksisitas yang sangat tinggi berdasarkan kategori toksisitas Clarkson dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 54,99 ppm. Temuan ini memberikan dasar untuk penelitian lebih lanjut terkait keamanan dan aplikasi farmakologis rimpang pacing sebagai bahan obat herbal.

**Kata kunci:** *Costus speciosus*, infusa,  $LC_{50}$ , toksisitas

### ABSTRACT

*Costus speciosus* or Pacing, is a herbal plant that has long been used in traditional medicine in various Asian countries. This plant is reported to have biological activities such as antidiabetic, anti-inflammatory, and anticancer. However, information regarding its toxicity is still limited. This study aims to determine the toxicity of *Costus speciosus* rhizome infusion using the *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method. This method utilizes *Artemia salina* Leach larvae as a model organism to assess potential toxicity. Pacing rhizomes contain bioactive compounds such as flavonoids, saponins, and alkaloids with pharmacological potential. The results showed that pacing rhizome infusion has very high toxicity based on the Clarkson toxicity category with an  $LC_{50}$  value of 54.99 ppm. These findings provide a basis for further research on the safety and pharmacological applications of pacing rhizomes as herbal medicine ingredients.

**Keywords:** *Costus speciosus*, infusion,  $LC_{50}$ , toxicity

## PENDAHULUAN

*Costus speciosus*, dikenal sebagai Pacing atau *crape ginger*, merupakan tumbuhan herbal yang tersebar luas di wilayah tropis, termasuk Indonesia. Secara tradisional, rimpang *Costus speciosus* telah dimanfaatkan dalam pengobatan berbagai penyakit, seperti diabetes, demam, dan infeksi kulit<sup>1</sup>. Kandungan fitokimia dalam rimpang ini, seperti saponin, alkaloid, dan flavonoid, diyakini berperan dalam aktivitas farmakologis tumbuhan *Costus speciosus*<sup>1,2</sup>. Meskipun memiliki potensi terapeutik, beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Costus speciosus* mengandung senyawa yang dapat menimbulkan efek toksik. Misalnya, saponin dalam jumlah besar dapat mengiritasi saluran pencernaan, menyebabkan gejala seperti pusing, muntah, diare, dan nyeri perut<sup>3,4</sup>. Oleh karena itu, evaluasi toksisitas rimpang *Costus speciosus* menjadi penting untuk memastikan keamanannya sebelum digunakan sebagai obat herbal.

Salah satu metode yang umum digunakan untuk uji toksisitas awal adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode ini sederhana, cepat, dan ekonomis, dengan menggunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan model uji<sup>5</sup>. BSLT juga dapat digunakan dalam mengidentifikasi potensi toksisitas ekstrak tumbuhan dan memiliki korelasi yang baik dengan aktivitas sitotoksik pada beberapa tumor manusia<sup>6,7</sup>.

Penelitian mengenai toksisitas *Costus speciosus* dengan metode BSLT masih terbatas. Beberapa studi sebelumnya lebih fokus pada studi aktivitas farmakologinya saja, seperti efek antimikroba, antipiretik, antikanker, antidiabetes dan antioksidan<sup>2</sup>. Walaupun sebelumnya ada yang melakukan uji toksisitas subkronik pada ekstrak air *Costus speciosus* namun hal tersebut tidak terfokus pada bagian rimpang tanaman tersebut. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi tingkat toksisitas infusa rimpang *Costus speciosus* menggunakan metode BSLT, sehingga dapat memberikan informasi yang komprehensif mengenai keamanan penggunaannya dalam pengobatan tradisional.

## METODE

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu aerator (Amara<sup>®</sup>), gelas kimia (Iwaki<sup>®</sup>), gelas ukur (Iwaki<sup>®</sup>), lampu pijar (Philips<sup>®</sup>), lup, pipet, timbangan (Constant<sup>®</sup>), vial dan *waterbath* (Thermostat *waterbath* HH6<sup>®</sup>). Bahan yang digunakan yaitu rimpang *Costus speciosus* yang diperoleh dari Hutan kota Sawah Lunto, kota Tarakan Kalimantan Utara, aquadest (teknis), bibit *Artemia salina* L. (Supreme plus<sup>®</sup>), NaCl (teknis), ragi (Fermipan<sup>®</sup>).

## Preparasi Infusa

Rimpang *Costus speciosus* segar, dicuci, dikupas, kemudian dipotong-potong menjadi ukuran yang lebih kecil dan dikeringkan selama 3 hari dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang. Selanjutnya Infusa dibuat dengan merebus 20 g rimpang *Costus speciosus* kering yang sebelumnya telah dibungkus dengan kain, dalam aquades 100 ml pada suhu 90°C selama 15 menit<sup>8</sup>.

## Uji Toksisitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

### Penyiapan Hewan Uji

Larva *Artemia salina* Leach diperoleh dengan menetasakan telur sebanyak 10 g dalam 500 ml air laut buatan dengan salinitas 2,8% dan menggunakan aerator sebagai penambah oksigen untuk penetasan larva, kemudian dibiarkan selama 48 jam lalu diberi penerangan. Larva yang aktif digunakan sebagai hewan uji<sup>9</sup>.

### *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Infusa rimpang *Costus speciosus* konsentrasi 200.000 ppm (10g/50ml), diencerkan menggunakan aquades dengan salinitas 2,8% hingga diperoleh konsentrasi 10, 50, 100, 500, dan 1000 ppm dalam vial yang telah dikalibrasi hingga batas 10 ml dan telah dimasukkan 10 ekor larva *Artemia salina* L. pada masing-masing vial. Sedangkan untuk kontrol negatif berupa aquades dengan salinitas 2,8% dalam vial sebanyak 10 ml serta 10 ekor larva *Artemia salina* L. Setelah itu diberi ragi sebagai makanan *Artemia salina* L. dan didiamkan selama 24 jam kemudian diberi penerangan dan aliran udara yang baik. Pada masing-masing intervensi dilakukan pengulangan 3 kali. Adapun rincian pengenceran infusa menjadi beberapa seri intervensi tersaji pada **tabel 1**.

**Tabel 1.** Rincian pengenceran infusa rimpang *Costus speciosus* menjadi beberapa seri intervensi pada uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*.

Konsentrasi (ppm)	Volume Infusa	Volume air laut buatan dengan 10 larva	Volume akhir
1000	2 ml (5000 ppm)	8 ml	10 ml
500	2 ml (2500 ppm)	8 ml	10 ml
100	2 ml (500 ppm)	8 ml	10 ml
50	2 ml (250 ppm)	8 ml	10 ml
10	2 ml (50 ppm)	8 ml	10 ml

Setelah didiamkan selama 24 jam, dilakukan pengamatan menggunakan lup untuk melihat ada tidaknya pergerakan dari larva *Artemia salina* L. sebagai kriteria standar penilaian kematian larva tersebut. Adapun rumus yang digunakan untuk mengetahui persentase mortalitas larva terhadap intervensi yang diberikan adalah sebagai Berikut<sup>10</sup>.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

## Analisis Data

Data mortalitas larva dianalisis menggunakan *Microsoft excel*<sup>®</sup> dengan metode regresi probit untuk memperoleh persamaan linear yang kemudian digunakan untuk menentukan nilai  $LC_{50}$  (*Lethal Concentration 50%*), yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% larva uji. Nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh kemudian diinterpretasikan berdasarkan kategori toksisitas Meyer dan Clarkson yang tersaji pada **tabel 2**.

**Tabel 2.** Kategori toksisitas Meyer dan Clarkson<sup>11,12</sup>

Nilai $LC_{50}$	Kategori Toksisitas	
	Meyer	Clarkson
>1000 ppm	Tidak toksik	Tidak toksik
500 - 1000 ppm		Toksisitas rendah
100 – 500 ppm	Toksik	Toksisitas sedang
0 – 100 ppm		Sangat toksik

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas infusa rimpang *Costus speciosus* dengan menggunakan metode BSLT. Metode ini adalah salah satu metode untuk mengukur tingkat toksisitas suatu senyawa serta mencari senyawa bioaktif yang memiliki sifat toksik atau batas keamanan penggunaan dari suatu bahan alam. Metode BSLT digunakan karena metode ini merupakan metode yang cukup mudah untuk dilakukan selain itu metode ini juga memiliki tingkat keakuratan yang baik<sup>5,13</sup>.

Metode BSLT bisa digunakan untuk berbagai uji seperti uji mitotoksin, polutan, pestisida, anestetik, komponen seperti karsinogenik dan ketoksikan dari hewan dan tumbuhan laut serta sifat toksik dari tanaman<sup>14</sup>. Adapun beberapa kategori untuk menentukan toksisitas suatu bahan dengan melihat nilai  $LC_{50}$ , jika nilai  $LC_{50} < 1000$  ppm maka menunjukkan aktivitas toksik yang kuat dan jika nilai  $LC_{50} > 1000$  ppm maka tidak menunjukkan aktivitas toksik<sup>14</sup>.

Rimpang *Costus speciosus* diekstraksi menggunakan metode infudasi yaitu suatu metode yang menggunakan pelarut air yang dipanaskan dengan suhu 90°C selama 15 menit. Ekstrak infusa rimpang *Costus speciosus* dibuat dalam beberapa seri konsentrasi yaitu 10, 50, 100, 500, dan 1000 ppm yang kemudian diujikan terhadap *Artemia salina* Leach menggunakan metode BSLT untuk melihat efek toksik dari rimpang *Costus speciosus*. Tanaman, rimpang dan infusa rimpang *Costus speciosus* yang digunakan dalam penelitian ini, dapat dilihat pada **gambar 1**.



**Gambar 1.** Tanaman, rimpang dan infusa rimpang Pacing (*Costus speciosus*)

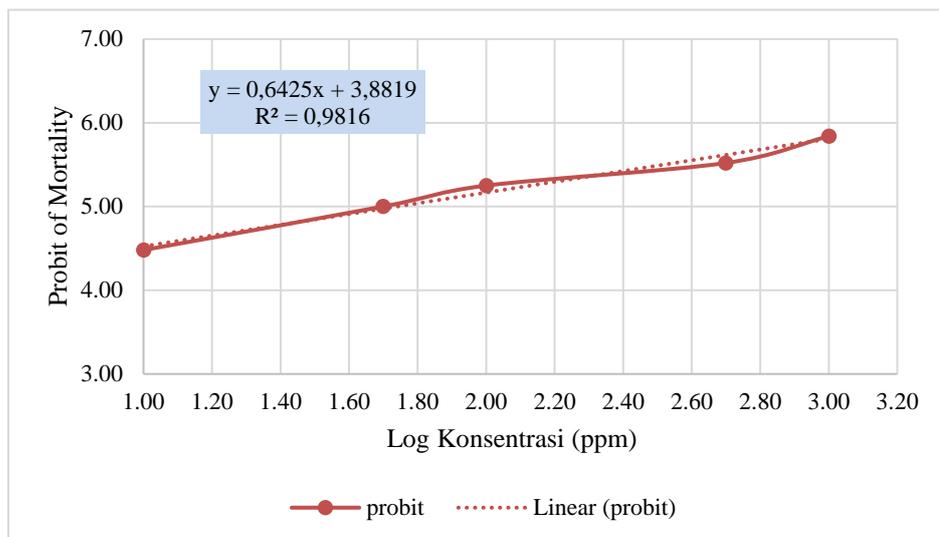
Dari hasil uji toksisitas infusa rimpang *Costus speciosus* diperoleh persentase mortalitas sebesar 30% pada konsentrasi 10 ppm, 50% pada konsentrasi 50 ppm, 60% pada konsentrasi 100 ppm, 70% pada konsentrasi 500 ppm, dan 80% pada konsentrasi 1000 ppm. Hasil yang diperoleh dari pengulangan uji dengan menggunakan 3 replikasi pada masing-masing konsentrasi yang dilakukan pada kondisi yang sama menunjukkan bahwa Metode BSLT memiliki tingkat reproduksibilitas yang tinggi mengingat hasil yang diperoleh konsisten, hal tersebut sesuai dengan yang dinyatakan oleh<sup>5,13</sup>, bahwa metode BSLT memiliki tingkat keakuratan yang baik Adapun hasil pengamatan uji toksisitas infusa rimpang *Costus speciosus* dapat dilihat pada **tabel 3**.

**Tabel 3.** Persentase mortalitas larva *Artemia salina* L. setelah terpapar Infusa rimpang *Costus speciosus* dengan variasi konsentrasi selama 24 jam.

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Probit	%Dead	Mortality	Total arthemia uji
10	1,00	4,48	30	3	10
50	1,70	5,00	50	5	10
100	2,00	5,25	60	6	10
500	2,70	5,52	70	7	10
1000	3,00	5,84	80	8	10

Data mortalitas *Artemia salina* Leach kemudian di analisis menggunakan regresi probit, untuk melihat hubungan antara variasi konsentrasi dan jumlah kematian *Artemia salina* Leach serta untuk menentukan besaran toksisitas ekstrak rimpang *Costus speciosus*. Adapun hasil analisis regresi

probit yang diperoleh dapat dilihat pada **gambar 2**.



**Gambar 2.** Grafik analisis regresi probit mortalitas *Artemia salin* L. terhadap konsentrasi infusa rimpang *Costus speciosus*.

Dapat dilihat dari grafik analisis regresi bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi tingkat kematian atau mortalitas yang terjadi. Persamaan regresi linear pada gambar 2, yang diperoleh dari analisis regresi digunakan untuk mencari nilai LC<sub>50</sub> dengan memasukkan nilai probit 50% sebagai y dalam persamaan regresi. Adapun penentuan LC<sub>50</sub> diperoleh pada perhitungan dengan menggunakan persamaan regresi dibawah ini.

$$\begin{aligned} \text{Persamaan regresi : } & y = 0,6425x + 3,8819 \\ & x = (5 - 3,8819) / 0,6425 \\ & = 1,740276 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{LC}_{50} (\text{antilog X}) &= \text{antilog } 1,740276 \\ &= 54,98902 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Dari hasil analisis data diperoleh nilai LC<sub>50</sub> infusa rimpang *Costus speciosus* 54.99 ppm. Dengan nilai LC<sub>50</sub> tersebut, berdasarkan kategori toksisitas Meyer dan Clarkson maka infusa rimpang pancing dikategorikan sebagai tanaman yang bersifat sangat toksik karena dapat mematikan 50% populasi larva *Artemia salina* L. pada konsentrasi 0-100 ppm<sup>13</sup>. Hal yang sama diperoleh dari penelitian<sup>15</sup> yang menyatakan bahwa ekstrak metanol daun *Costus speciosus* memiliki efek yang sangat toksik dengan konsentrasi LC<sub>50</sub> sebesar 45,53 ppm.

Berbeda halnya dengan hasil penelitian yang diperoleh<sup>16</sup> yang menyatakan bahwa ekstrak etanol rimpang *Costus speciosus* yang diberikan pada tikus jantan tidak menyebabkan perubahan apapun pada tiap parameter yang diuji, dimana hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang *Costus speciosus* aman jika digunakan sebagai tanaman obat. Hal yang sama juga diperoleh

dari penelitian<sup>17</sup> dimana ekstrak metanol yang diberikan pada tikus jantan dan betina dengan dosis yang tingkatan hingga 2000 mg/kg BB tidak menyebabkan kematian ataupun perubahan perilaku yang signifikan selama penelitian.

Ada perbedaan kesimpulan terkait toksisitas ekstrak rimpang *Costus speciosus* dari beberapa penelitian. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya adalah karena adanya perbedaan konsentrasi dari beberapa senyawa dengan lokasi tumbuh rimpang yang berbeda, kepolaran dari pelarut juga dapat mempengaruhi tingginya konsentrasi senyawa tertentu yang tersari dalam ekstrak sehingga menyebabkan toksisitas ekstrak juga meningkat. Selain itu, Ekstrak air dan etanol memiliki profil senyawa yang berbeda, sehingga hasil uji toksisitas dan aktivitasnya tidak dapat dibandingkan secara langsung. Toksisitas pada uji BSLT (LC50 = 54,99 ppm) kemungkinan disebabkan oleh senyawa polar dalam ekstrak air, yang tidak terlarut dalam etanol dan mungkin tidak relevan pada model mamalia sehingga perlu dikaji lebih mendalam.

Berdasarkan hasil penelitian<sup>18</sup> menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak air (infusa) dan ekstrak etanol *Costus speciosus* adalah sama yaitu tanin, senyawa fenolik, flavonoid, saponin dan glikosida. Namun, menurut<sup>19</sup> bahwa saponin merupakan senyawa yang lebih mudah larut dalam air dibandingkan dalam etanol sehingga efek toksik infusa rimpang *Costus speciosus* diduga berasal dari kandungan senyawa saponin yang tinggi. Meskipun efek positif saponin bagi kesehatan telah banyak dilaporkan oleh peneliti sebelumnya, seperti dapat berperan sebagai antioksidan, antitumor, antiinflamasi, agen hipokolesterolemik, agen hipoglikemik, antimikroba, antiparasit dan moluskisida<sup>4,20</sup>, namun saponin juga memiliki efek samping diantaranya, dapat mengiritasi saluran pencernaan, menghambat penyerapan mikronutrien, menyebabkan anoreksia, kelesuan, penurunan berat badan dan bahkan kematian jika dikonsumsi dalam jumlah atau dosis yang tinggi<sup>4</sup>. Saponin steroid yang berasal dari *Dioscorea zingiberensis* berupa diosgenin yang diketahui juga terdapat pada rimpang *Costus speciosus*, dapat menyebabkan efek toksik dan bahkan kematian pada dosis  $\geq 1.125$  mg/kg, akan tetapi pada dosis 510 mg/kg/hari tidak memiliki toksisitas yang signifikan<sup>21</sup>. Oleh karena itu, dalam memastikan keamanan dan efektivitas ekstrak rimpang *Costus speciosus*, perlu dilakukan uji toksisitas lanjutan secara *in-vivo* agar dapat diketahui konsentrasi atau dosis yang aman untuk dikonsumsi, kemudian melakukan analisis fitokimia untuk membandingkan kandungan senyawa dari beberapa jenis ekstrak khususnya pada ekstrak etanol dan air (infusa), serta melakukan fraksinasi ekstrak air untuk memisahkan senyawa toksik dari senyawa aktif bila perlu.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitiann uji toksisitas menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* pada Infusa rimpang pacing (*Costus speciosus*) maka dapat disimpulkan bahwa infusa rimpang pacing dikategorikan sebagai senyawa yang sangat toksik dengan nilai  $LC_{50}$  pada konsentrasi 54,99 ppm. Temuan ini memberikan dasar untuk penelitian lebih lanjut terkait keamanan dan aplikasi farmakologis rimpang pacing sebagai bahan obat herbal.

## DAFTAR PUSTAKA

1. El-Far AH, Shaheen HM, Alsenosy AW, El-Sayed YS, Jaouni SKA, Mousa SA. *Costus speciosus* : Traditional Uses, Phytochemistry, and Therapeutic Potentials. *Pharmacogn Rev.* 2018;12(23):120–7.
2. Sohrab S, Mishra P, Mishra SK. Phytochemical competence and pharmacological perspectives of an endangered boon—*Costus speciosus* (Koen.) Sm.: a comprehensive review. *Bull Natl Res Cent [Internet].* 4 Desember 2021 [dikutip 25 Desember 2024];45(1):209. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00663-2>
3. Samtiya M, Aluko RE, Dhewa T. Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. *Food Prod Process Nutr [Internet].* 6 Maret 2020 [dikutip 25 Desember 2024];2(1):6. Tersedia pada: <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>
4. Sharma K, Kaur R, Kumar S, Saini RK, Sharma S, Pawde SV, dkk. Saponins: A concise review on food related aspects, applications and health implications. *Food Chem Adv [Internet].* 1 Oktober 2023 [dikutip 25 Desember 2024];2:100191. Tersedia pada: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772753X23000114>
5. Barua N, Ibn Aziz MA, Tareq AM, Sayeed MA, Alam N, Alam N ul, dkk. *In vivo* and *in vitro* evaluation of pharmacological activities of *Adenia trilobata* (Roxb.). *Biochem Biophys Rep [Internet].* 1 September 2020 [dikutip 25 Desember 2024];23:100772. Tersedia pada: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405580820300819>
6. Apu A, Muhit M, Tareq S, Pathan A, Jamaluddin A, Ahmed M. Antimicrobial Activity and Brine Shrimp Lethality Bioassay of the Leaves Extract of *Dillenia indica* Linn. *J Young Pharm JYP [Internet].* 2010 [dikutip 25 Desember 2024];2(1):50–3. Tersedia pada: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3035885/>
7. Mutammimah N, Santoso BSA. Uji toksisitas Akut Infusa Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* l.) pada *Artemia salina* menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *J Farm MedicaPharmacy Med J PMJ [Internet].* 2 Desember 2019 [dikutip 25 Desember 2024];2(2):75–9. Tersedia pada: <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/pmj/article/view/26530>
8. Bourhia M, Haj Said AA, Chaanoun A, El Gueddari F, Naamane A, Benbacer L, dkk. Phytochemical Screening and Toxicological Study of *Aristolochia baetica* Linn Roots: Histopathological and Biochemical Evidence. *J Toxicol [Internet].* 3 Februari 2019 [dikutip 5 Juli 2021];2019:1–7. Tersedia pada: <https://www.hindawi.com/journals/jt/2019/8203832/>
9. Asaduzzaman M, Rana MdS, Hasan SMR, Hossain MdM, Das N. Cytotoxic (Brine Shrimp Lethality Bioassay ) and Antioxidant Investigation of *Barringtonia Acutangula* (L.)”. *Int J Pharma Sci Res IJPSR.* 2015;6(8):7.
10. Syuhada S, Rukaya BE, Setiawan B. Toxicity test of Kedayan root infusion (*Aristolochia* sp.) using brine shrimp lethality test method. *Media Farm J Ilmu Farm [Internet].* 14 September 2022 [dikutip 25 Desember 2024];19(2):140–5. Tersedia pada: <https://journal.uad.ac.id/index.php/Media-Farmasi/article/view/21045>

11. Satya NA, Pradana DLC, Kolib A, Aprilia CA. Brine shrimp lethality test on aqueous extract of *Caesalpinia Sappan L.* JFIOnline Print ISSN 1412-1107 E-ISSN 2355-696X [Internet]. 31 Januari 2021 [dikutip 25 Desember 2024];13(1):62–7. Tersedia pada: <https://www.jfi-online.org/index.php/jfi/article/view/54>
12. Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, Nichols D, McLaughlin J. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Med* [Internet]. Mei 1982 [dikutip 6 Agustus 2022];45(05):31–4. Tersedia pada: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2007-971236>
13. Mutammimah N, Santoso BS. Uji Toksisitas Akut Infusa Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) pada *Artemia salina* Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). 2019;2(2):75–9.
14. Jelita SF, Setyowati GW, Ferdinand M, Zuhrotun A, Studi P, Farmasi S, dkk. Uji Toksisitas Infusa *Acalypha siamensis* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). 2020;18:14–22.
15. Suryatrto D, Kelana TB, Wahyuni S. Uji Antimikroba Fraksi Metanol, Etil Asetat dan n-Heksana Daun Tabar-Tabar (*Costus speciosus*) dan Toksisitasnya Terhadap Larva Udang. *Biota*. 2010;15(February):118–25.
16. Sari IP, Nurrochmad A. Sub-acute toxicity study of ethanolic extract of pacing (*Costus speciosus*) in male mice. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2016;8(12):97–101.
17. Najma C, Chandra KJ, Ansarul H. Effect of *Costus speciosus* Koen on reproductive organs of female albino mice. *ResearchGate* [Internet]. 20 April 2012 [dikutip 1 Januari 2025]; Tersedia pada: [https://www.researchgate.net/publication/290889757\\_Effect\\_of\\_Costus\\_speciosus\\_Koen\\_on\\_reproductive\\_organ\\_of\\_female\\_albino\\_mice](https://www.researchgate.net/publication/290889757_Effect_of_Costus_speciosus_Koen_on_reproductive_organ_of_female_albino_mice)
18. Borkatak M, Kakoti BB, Saikia LR. Analysis of Primary and Secondary Metabolite Profile of *Costus speciosus* (Koen Ex.Retz.) Sm. Rhizome. 2014;
19. Stela Medeiros C, Medeiros B, Macedo ML, Guimarães R, Freitas K, Bogo D, dkk. Acute Toxicity of Aqueous Extract from *Bredemeyera floribunda* Root Bark in an Animal Model. *Sci World J* [Internet]. 24 Juni 2024 [dikutip 1 Januari 2025];2024:8991384. Tersedia pada: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11217578/>
20. Rukaya BE, Syuhada S, Sari DP. Uji aktivitas anthelmintik ekstrak etanol rimpang pacing (*Costus speciosus* (Koen.) Sm.) terhadap cacing tanah (*Lubricus rubellus*) | *Journal Borneo* [Internet]. 2021 [dikutip 1 Januari 2025]. Tersedia pada: <https://journalborneo.com/index.php/jb/article/view/13>
21. Semwal P, Painuli S, Abu-Izneid T, Rauf A, Sharma A, Daştan SD, dkk. Diosgenin: An Updated Pharmacological Review and Therapeutic Perspectives. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 29 Mei 2022 [dikutip 2 Januari 2025];2022:1035441. Tersedia pada: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9168095/>