



Artikel Penelitian

Penentuan Toksisitas Akut Ekstrak dan Fraksi Daun Maja (*Aegle Marmelos* L.) dan Identifikasi Gugus Fungsi

(Determination of The Acute Toxicity of Maja Leaf Extract and Fraction (*Aegle Marmelos* L.) and Identification of Functional Group)

Irvan Anwar^{1,2,*}, Yamin¹, Parawansah^{1,3}, Sabarudin¹, Rachma Malina¹, Vica Aspadiah¹, Loly Subhiaty Idrus¹, Nadiya Mutmainnah¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu, Kendari, 93232

²Program Studi Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Kampus Bumi Tridharma Anduonohu, Kendari, 93232

³Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Halu Oleo, Kampus Bumi Tridharma Anduonohu, Kendari, 93232

Info Artikel	Abstrak
Submitted: 07/09/2023 Revised : 13/10/2023 Accepted : 22/10/2023 Published : 31/10/2023	Daun maja (<i>Aegle marmelos</i> L.) adalah tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional dan dikenal memiliki banyak metabolit sekunder. Dilakukan pengujian toksisitas untuk menilai keamanan tanaman yang digunakan sebagai bahan obat. Pengujian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dampak beracun yang muncul dalam kurun waktu 24 jam setelah pemberian bahan/zat uji. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas akut, kadar total fenolik dan flavonoid, serta identifikasi gugus fungsi pada fraksi n-heksan daun maja (<i>Aegle marmelos</i> L.). Pengujian toksisitas akut dengan metode <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT), penentuan kadar total fenolik dan flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan identifikasi gugus menggunakan spektrofotometri <i>Fourier-Transform Infra Red</i> . Nilai LC ₅₀ ekstrak methanol dan fraksi n-heksana dalam penelitian ini berturut-turut adalah 771,19 dan 772,77 ppm, yang artinya ekstrak dan fraksi daun maja bersifat toksik dilihat dari nilai LC ₅₀ < 1000 ppm. Pada pengukuran kadar fenolik dan flavonoid total fraksi n-heksan memiliki kadar paling tinggi berturut-turut yaitu 312,10 dan 296,90 mgEQ/g. Hasil pengujian identifikasi gugus fungsi pada daun maja berdasarkan spektra FTIR menunjukkan keberagaman jenis gugus fungsi. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu daun maja (<i>Aegle marmelos</i> L.) mengandung komponen kimia yang berkontribusi terhadap toksisitasnya, dan dikategorikan medium toksik ($\leq 1,000$ mg/L).
Corresponding author*): irvananwar@uho.ac.id	Kata Kunci: Toksisitas akut, BSLT, <i>Artemia salina</i> Leach, <i>Aegle marmelos</i>

1. PENDAHULUAN

Menurut Panduan Mutu WHO, obat tradisional adalah obat yang dibuat dari tumbuhan, hewan, mineral, atau kombinasi bahan-bahan tersebut yang digunakan oleh masyarakat setempat. Ini karena telah menjadi bagian dari budaya masyarakat dan digunakan di seluruh masyarakat (Widyastuti & Sari, 2019).

Menurut panduan WHO, zat yang digunakan untuk penyembuhan pada manusia dan hewan harus melewati uji praklinis dan klinis. Keamanan zat tersebut ditetapkan melalui pengujian praklinis, termasuk pengujian intensif terhadap bahaya yang merujuk pada efek beracun yang timbul sekitar 24 jam setelah zat tersebut diberikan (Mustapa, 2018).

Tanaman yang seri ditemukan di rumah dan dikenal mengandung beragam senyawa metabolit salah satunya daun maja (*Aegle marmelos* L.). Dalam konteks percobaan, tumbuhan maja telah digunakan untuk tujuan pengobatan hipertensi, asma, batuk, demam, dan diabetes (Megawati, 2019; Wati et al., 2022). Daun maja mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, fenol serta alkaloid (Badaring et al., 2020). Senyawa seperti fenol, tanin, dan flavonoid memiliki potensi untuk mematikan larva udang *Artemia salina*. Karena itu, penting untuk melakukan pengujian toksisitas dan mengidentifikasi tanaman yang memiliki tingkat kandungan beragam komponen tinggi dalam daun maja. Salah satu metode umum yang digunakan untuk mengevaluasi toksisitas tanaman adalah dengan menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Metode BSLT adalah teknik untuk menilai toksisitas senyawa dengan menggunakan biota laut, khususnya *Artemia salina* Filter (Nuralifah et al., 2018). *Artemia salina* Leach digunakan karena metodenya sederhana, biayanya terjangkau, dan hasilnya cepat (Saragih et al., 2022). Begitu juga dengan *Artemia salina*, berkulit tipis dan sensitif dilingkungannya (Jelita et al., 2020).

Umunya, senyawa yang terkandung dalam tanaman dapat menentukan tingkat toksistas dari suatu senyawa, namun penelitian secara mendalam terkait identifikasi senyawa masih kurang mendapat perhatian. FTIR salah satu metode yang sering digunakan untuk menganalisis tanaman dengan kandungan multikomponen. Spektroskopi ini umumnya digunakan karena pemeriksaan gabungan menghasilkan perolehan banyak spektrum dengan cepat. Gugus fungsi hasil pengukuran FTIR dapat memudahkan untuk mengetahui jenis senyawa yang terdapat pada suatu tanaman. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan penentuan toksisitas akut ekstrak dan fraksi daun maja (*Aegle marmelos* L.) dan identifikasi gugus fungsi.

2. METODE

2.1 Ekstraksi dan fraksinasi

Daun maja (*Aegle marmelos* L.) yang digunakan berasal dari Kelurahan Watulondo, Kecamatan Puuwatu, Kota Kendari. Daun yang dimanfaatkan adalah daun muda berwarna hijau dan segar, dengan tulang daun yang terlihat dengan jelas dan telah dipisahkan dari batangnya. Ekstraksi dilakukan mengikuti metode Anwar et al., (2023), dimana serbuk simplisia sebanyak 600 gr dimasukkan ke dalam wadah kaca dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 5 L selama 3 x 24 jam. Hasil ekstraksi (60 gr) kemudian di fraksinasi secara prinsip partisi dengan corong pisah menggunakan pelarut n-heksana (Anwar et al., 2023).

2.2 Skrining Fitokimia

2.2.1 Uji Alkaloid

Setelah fraksi dan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tiga tetes pereaksi Dragendroff ditambahkan. Endapan berwarna jingga atau merah kuning menunjukkan ekstrak mengandung senyawa alkaloid (Nuralifah et al., 2023).

2.2.2 Uji Flavonoid

1 ml HCl pekat dan 1 ml alkohol ditambahkan ke dalam tabung reaksi bersama dengan ekstrak dan fraksi. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan oleh reaksi yang memiliki warna jingga, kuning, atau kuning (Nuralifah et al., 2023).

2.2.3 Uji Tanin

Setelah fraksi dan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, FeCl₃ 1% ditambahkan. Endapan hijau kecoklatan dan biru tua menunjukkan adanya senyawa tanin (Nuralifah et al., 2023).

2.2.4 Uji Terpenoid

Dalam tabung reaksi, fraksi dan ekstrak dimasukkan, 1 ml asam asetat glasial ditambahkan, dan 2-3 tetes H₂SO₄ ditambahkan. Warna coklat kemerahan reaksi menunjukkan adanya senyawa terpenoid (Nuralifah et al., 2023).

2.2.5 Uji Terpenoid

Setelah ekstrak dan fraksi dimasukkan ke dalam tabung reaksi, air ditambahkan dan dikocok selama ±30 detik. Kemudian, 2 tetes HCl 1 N ditambahkan, yang menyebabkan busa yang menunjukkan adanya senyawa saponin (Nuralifah et al., 2023).

2.3 Uji Toksisitas

Uji toksisitas metode BSLT menggunakan variasi konsentrasi 10, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 ppm dari masing-masing sampel ekstrak methanol dan fraksi *n*-heksana. Kemudian, disiapkan vial berisi 2,5 ml larutan sampel dan dimasukkan sebanyak 10 larva udang dan ditambahkan 2,5 mL air laut (Sumihe et al., 2013). Untuk setiap

konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan (Frengki et al., 2014). Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva udang yang masih hidup dan yang sudah mati. Data yang diperoleh dianalisis probit menggunakan aplikasi *Minitab*®19. Pengukuran mortalitas larva *Artemia salina* Leach:

$$\text{Mortalitas (\%)} = \frac{\text{Jumlah artemia yang mati}}{\text{Jumlah artemia yang hidup}} \times 100 \%$$

2.4 Pengukuran FTIR

Pengukuran spektra FTIR dilakukan dengan Spektrometer FTIR (IRPrestige-21), pada daerah IR tengah (4000- 650 cm^{-1}) dengan jumlah pemindaian 32 dan resolusi 8 cm^{-1} . Semua spektra diukur setelah pengukuran spektra *background*. Hasil pengukuran sampel akan dikurangi secara otomatis dengan spektra *background* oleh perangkat lunak komputer untuk diperoleh spektra sampel yang akan dianalisis. Selain itu, spektra FTIR dicatat sebagai nilai absorbansi pada setiap data untuk memudahkan studi kuantitatif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstrak metanol Daun Maja diperoleh dari hasil *rotary evaporator*. Rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 12,3 % atau 123 gr ekstrak. Fraksinasi ekstrak metanol daun maja dilakukan dengan teknik partisi (Corong pisah). Prinsip pemisahan pada fraksinasi ini didasari oleh perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Pratiwi et al., 2019). Hasil fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan terhadap ekstrak metanol Daun maja disajikan pada Tabel 1. Data Tabel 1, menggambarkan bahwa ekstrak daun maja memiliki senyawa yang bersifat non polar dengan rendemen yang dihasilkan sebesar 31%, sedangkan 69% rendemen lainnya diperkirakan mengandung senyawa yang bersifat semi polar maupun bersifat polar.

Tabel 1. Hasil Fraksinasi ekstrak metanol Daun Maja

Fraksi	Berat Fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksana	19,00	31,66

3.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi komponen senyawa metabolit sekunder dalam sampel bahan alam yang sedang diselidiki. Pendekatan kualitatif dalam metode skrining fitokimia melibatkan penggunaan reaksi warna dengan penggunaan pereaksi tertentu (Vifta & Yustisia, 2018). Hasil skrining fitokimia ekstrak methanol dan fraksi *n*-heksana dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan bahwa

ekstrak metanol dan fraksi n-heksan daun maja positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan terpenoid.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol, fraksi n-heksana, daun maja

Golongan Senyawa	Sampel	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Ekstrak	+	Endapan putih
	<i>n</i> -heksana	+	Endapan putih
Flavonoid	Ekstrak	+	Warna kuning
	<i>n</i> -heksana	+	Kuning kecoklatan
Saponin	Ekstrak	+	Terbentuk busa
	<i>n</i> -heksana	+	Terbentuk busa
Tanin	Ekstrak	+	Hitam kehijauan
	<i>n</i> -heksana	+	Hitam kehijauan
Terpenoid	Ekstrak	+	Coklat kehijauan
	<i>n</i> -heksana	+	Coklat kehijauan

3.3 Uji Toksisitas Akut

Pengujian toksisitas tahap awal dengan menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode BSLT dapat menilai efek toksik dari zat atau senyawa tertentu yang terdapat dalam suatu ekstrak dalam waktu singkat, yakni selama periode 24 jam setelah pemberian sampel uji. Larva *Artemia salina* Leach yang berusia 48 jam digunakan dalam uji ini karena mulut dan saluran pencernaannya telah terbentuk sempurna serta memiliki peningkatan ketahanan tubuh (Nuralifah et al., 2018).

Pengujian toksisitas akut dilakukan dengan menyiapkan vial khusus untuk masing-masing sampel ekstrak metanol dan fraksi n-heksan pada berbagai konsentrasi, yaitu 10, 50, 100, 250, 500, 750, dan 1000 ppm. Kemudian ditambahkan 10 larva udang dalam vial yang berisi 2,5 mL sampel dan ditambahkan 2,5 mL air laut (Sumihe et al., 2013). Untuk mengetahui apakah ekstrak atau fraksi yang ditambahkan menyebabkan kematian larva, larutan kontrol negatif yang terdiri dari DMSO dan air laut dibuat tanpa menambah ekstrak atau fraksi.

Hasil uji toksisitas menggunakan metode BSLT dapat dilihat pada Tabel 3, dimana semakin meningkat konsentrasi tiap sampel berbanding lurus dengan meningkatnya persentase mortalitas larva. Hal ini disebabkan oleh peningkatan konsentrasi yang menghasilkan lebih banyak senyawa aktif. Nilai LC_{50} menggambarkan konsentrasi larutan uji yang dapat membunuh 50% populasi hewan uji (Nuralifah et al., 2018).

Berdasarkan Tabel 3, menunjukkan nilai LC_{50} pada konsentrasi 1000 ppm dari ekstrak etanol dan fraksi n-heksana adalah 771,19 dan 772,7 ppm. Dalam penilaian toksisitas menggunakan uji BSLT, suatu sampel dikatakan bersifat toksik jika nilai LC_{50}

berkisar antara 30-1000 mg/L (Lachumy et al., 2010). Jika nilai $LC_{50} > 1.000$ mg/L dikategorikan tidak toksik; nilai LC_{50} 31-1000 mg/L dikategorikan toksik sedang; dan dikategorikan sangat toksik jika $LC_{50} < 30$ mg/L. Berdasarkan nilai LC_{50} dari sampel ekstrak dan fraksi daun maja mempunyai potensi toksisitas akut kategori toksik sedang karena nilai LC_{50} berada dalam rentang 31-1000 mg/L. Bristy et al. (2017) juga menemukan hal yang serupa, bahwa ekstrak metanol dari bagian tumbuhan *Aegle marmelos* seperti buah, daun dan biji memiliki LC_{50} berturut-turut 255,38, 294,97, dan 86,77 mg/L yang termasuk ke dalam kategori toksik sedang (Bristy et al., 2017).

Tabel 3. Nilai LC_{50} ekstrak dan fraksi daun maja

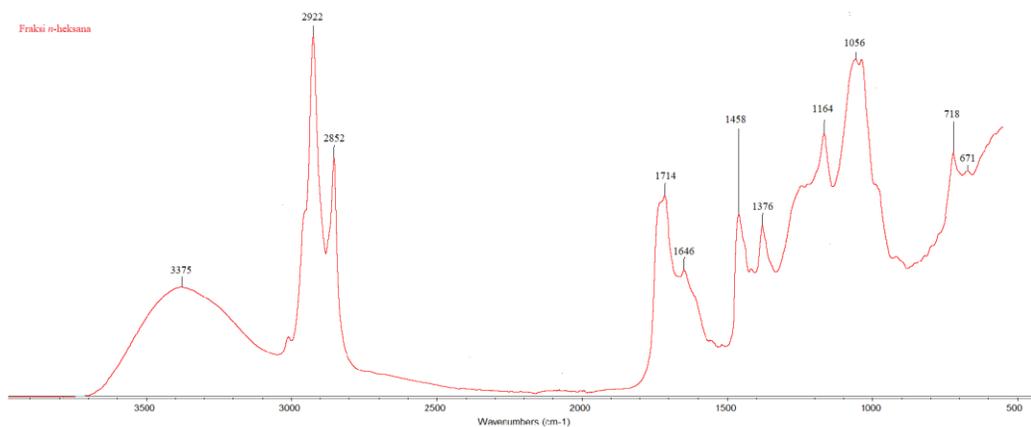
Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas	LC_{50} (μ g/mL/ppm)
Ekstrak Metanol	0	0	771,19
	10	0	
	50	6,66	
	100	13,33	
	250	16,66	
	500	36,66	
	750	43,33	
	1000	66,66	
Fraksi <i>n</i> -heksana	0	0	772,77
	10	0	
	50	10	
	100	10	
	250	23,33	
	500	33,33	
	750	43,33	
	1000	66,66	

Sifat toksik dari ekstrak dan fraksi daun maja berkaitan dengan senyawa metabolit sekunder yang dikandungnya. Flavonoid dan tanin diperkirakan memiliki efek toksik terhadap *Artemia salina*. Senyawa lain seperti terpenoid, flavonoid dan alkaloid dalam kadar tertentu juga diduga memiliki toksisitas akut yang menyebabkan kematian pada larva *Artemia salina*.

Fungsi senyawa metabolit sekunder daun maja, yang dapat menghentikan larva makan, bertanggung jawab atas mekanisme kematian larva. Senyawa-senyawa tersebut bertindak sebagai racun perut yang mengganggu sistem pencernaan. Selain itu, reseptor di mulut larva juga akan dihambat sehingga stimulus rasa tidak akan terjadi pada larva, yang berarti mereka tidak akan dapat merasakan makanannya dan akhirnya larva kelaparan dan mati (Jelita et al., 2020).

3.4 Identifikasi FTIR

Data yang diperoleh dalam uji FTIR berupa data absorbansi yang terbaca pada bilangan gelombang dari fraksi *n*-heksana daun maja. Hasil spektra FTIR sampel daun maja dapat dilihat pada Gambar 1 yang menunjukkan adanya berbagai macam gugus fungsi pada fraksi *n*-heksana daun maja (Tabel 4).



Gambar 1. Spektra FTIR fraksi *n*-heksana daun maja pada bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1}

Tabel 4. Panjang gelombang dan gugus fungsi pada fraksi *n*-heksana daun maja

No.	Wavenumber (cm^{-1})	Gugus Fungsi
1.	671	C-H bending
2.	718	C-H bending (aromatik)
3.	1056	C-O stretching (eter, ester, asam karboksilat)
4.	1164	C-O stretching
5.	1376	C-H bending
6.	1458	C-H bending
7.	1646	C=C stretching (keton, asam karboksilat)
8.	1714	C-H stretching (alkana)
9.	2852	C-H stretching (alkana)
10.	2922	C-H stretching (alkena)
11.	3375	O-H stretching (alkohol)

Pada bilangan gelombang 3375 cm^{-1} , senyawa hasil identifikasi pada IR fraksi *n*-heksan menunjukkan adanya gugus OH bebas, yang didukung oleh serapan pada bilangan gelombang 1056 cm^{-1} , yang menunjukkan tekukan gugus C-O. Selain itu, pada gelombang 2922 cm^{-1} dan 2852 cm^{-1} , terdapat pita tajam yang sangat kuat yang menunjukkan ulur C-H; serapan pada gelombang 1458 cm^{-1} dan 1376 cm^{-1} menunjukkan tekukan C-H; dan pita serapan pada gelombang 1646 cm^{-1} menunjukkan bahwa ada gugus C=C. Berdasarkan beberapa studi literatur, spektrum ini menggambarkan senyawa golongan steroid, khususnya β -sitosterol. β -sitosterol telah diidentifikasi

sebelumnya dalam dalam ekstrak n-heksan *Aegle marmelos* L (Salempa, 2014), Dengan membandingkan data dengan literatur, dapat disimpulkan bahwa senyawa yang ditemukan adalah golongan senyawa steroid yaitu β -sitosterol.

4. KESIMPULAN

Hasil uji toksisitas ekstrak metanol dan fraksi n-heksan daun maja (*Aegle marmelos* L.) menunjukkan potensi toksisitas akut dengan kategori toksik sedang, juga mengandung senyawa metabolit sekunder yang beragam dan hasil pengukuran IR menunjukkan serapan pita diberbagai daerah yang menunjukkan adanya senyawa steroid yaitu β -sitosterol pada fraksi n-heksan daun maja.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo yang telah memberikan dukungan dan fasilitas untuk terselesaikannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, I., Idrus, L. S., Jannah, S. R. N., & Nuralifah. (2023). Pengaruh Pemberian Fraksi Daun Jati terhadap Profil Kadar Glikogen Hati dan Otot Tikus Putih DM Tipe II Effect of Teak Leaf Fraction on Liver and Muscle Glycogen Levels in Type II DM White Rats Info Artikel : sistem endokrin yang ditandai dengan kadar dal. *Pharmacia, Jurnal Waluya, Mandala*, 2(1).
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., & Lembang, S. A. R. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16. <https://doi.org/10.26858/ijfs.v6i1.13941>
- Bristy, N. J., Hasan, A. H. M. N., Alam, M. N., Wahed, T. B., Roy, P., & Alam, K. M. K. (2017). Characterization of antioxidant and cytotoxic potential of methanolic extracts of different parts of *Aegle Marmelos* (L.). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(3), 1476–1484. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8\(3\).1476-84](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.8(3).1476-84)
- Frengki, Roslizawaty, & Pertiwi, D. (2014). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Sarang Semut Lokal Aceh (*Myrmecodia* sp.) dengan Metode Bslt Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Jurnal Medika Veterinariaa*, 8(1).
- Jelita, S. F., Setyowati, G. W., Ferdinand, M., Zuhrotun, A., & Megantara, S. (2020). Uji Toksisitas Infusa *Acalypha Simensis* dengan Metode Brine Shrip Lethality Test (BSLT). *Jurnal Farmaka*, 18(1), 14–22.
- Lachumy, S. J. T., Sasidharan, S., Sumathy, V., & Zuraini, Z. (2010). Pharmacological activity, phytochemical analysis and toxicity of methanol extract of *Etlingera elatior*

- (torch ginger) flowers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(10), 769-774. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60185-X](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60185-X)
- Megawati, S. W. (2019). Analisis Mortalitas Pasien di Ruang Intensive Care Unit (ICU). *Universitas Bhakti Kencana*, 127-135. <https://www.questionpro.com/blog/consecutive-sampling/>
- Mustapa, M. A. (2018). Uji Toksisitas Akut yang diukur dengan Penentuan LD₅₀ Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Menggunakan Metode Thompson-Weil. *Frontiers: Jurnal Sains dan Teknologi*, 1(4), 105-117. <https://doi.org/10.36412/frontiers/001035e1/april201801.10>
- Nuralifah, Fitrawan, L. O. M., Parawansah, Anwar, I., & Zuhriyah, A. (2023). Aktivitas Antihiperqlikemik Ekstrak Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe II. *Lansau : Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1), 59-68.
- Nuralifah, N., Jabbar, A., Parawansah, P., & Iko, R. A. (2018). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Notika (*Archboldiodendron calosercium* (Kobuski)) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 4(1), 1-5. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v4i1.4618>
- Pratiwi, D. I., Syarif, R. A., Waris, R., & Faradiba, F. (2019). Isolasi Senyawa Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 6(1), 340-346. <https://doi.org/10.33096/jffi.v6i1.466>
- Salempa, P. (2014). Isolasi dan Identifikasi senyawa Metabolit sekunder ekstrak n-Heksan daun Tumbuhan Maia (*Aegle marmelos* Linn.). *Jurnal Sainsmat*, 3(2)(2), 185-190.
- Saragih, D. S., Ridwanto, R., Daulay, A. S., Miswanda, D., & Nasution, H. M. (2022). Toxicity Test of Windu Shrimp (*Penaeus monodon*) Skin Chitosan With Brine Shrimp Lethality Test Method. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology (IJCST)*, 5(2), 88. <https://doi.org/10.24114/ijcst.v5i2.37453>
- Sumihe, G., Liwas, D., & Sekunder, M. (2013). Analisis Fitokimia dan Penentuan Nilai LC₅₀ Ekstrak Metanol Daun Liwas. *Jurnal Ilmiah Sains*, 14(2), 1-4.
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1, 8-14.
- Wati, D. R., Rahmawati, I., Sulistiyowati, T. I., Primandiri, P. R., & Santoso, A. M. (2022). Etnobotani Tanaman Maja (*Aegle marmelos*) di Kecamatan Mojo Kabupaten Kediri. *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan, Sains Dan Pembelajaran*, 2(1), 549 - 553-549 - 553. <https://proceeding.unpkediri.ac.id/index.php/seinkesjar/article/view/3073>
- Widyastuti, S., & Sari, A. (2019). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *Jurnal Herbal Indonesia*, 1(1), 10-17.