

SIFAT TOKSISITAS DAN KEMAMPUAN PENGHAMBATAN ENZIM A-AMILASE DARI EKSTRAK BIJI BUAH MATOA (*Pometia pinnata* J. R & G. FORST)

Elvany Jovico Dangeubun¹, Dewa Gede Katja^{1*}, Maureen Kumaunang¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi
*dewakatja@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan total fenolik, flavonoid, tanin terkondensasi, sifat toksisitas dengan metode BSLT dan kemampuan penghambatan enzim α -amilase dari biji dan kulit biji matoa. Hasil penelitian kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi ekstrak kulit biji matoa lebih tinggi dibandingkan ekstrak biji matoa. Selanjutnya nilai LC_{50} berturut-turut EMK= 4,915 ppm, EMB= 12,922 ppm, EAK= 197,244 ppm dan EAB= 466,432 ppm. Pengujian toksisitas pada *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji dan kulit biji matoa bersifat sangat toksik dibandingkan toksisitas ekstrak etil asetat biji dan kulit biji matoa. Kesimpulannya, berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ekstrak biji dan kulit biji matoa terbukti secara *in vitro* mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase.

Kata kunci: Fenolik, toksisitas, *Artemia salina* Leach, enzim α -amilase, biji matoa

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the total phenolic content, flavonoids, condensed tannins, toxicity properties using the BSLT method and the inhibitory ability of the α -amylase enzyme from seeds and seed coats of matoa. The results showed that the highest total phenolic content, flavonoids and condensed tannins were found in the matoa seed coat extract, while the matoa seed extract showed lower yields. Then, the LC_{50} values were EMK= 4,915 ppm, EMB= 12,922 ppm, EAK= 197.244 ppm and EAB= 466,432 ppm. Toxicity testing showed that the methanol extract of matoa seeds and seed coats was very toxic compared to the toxicity of the ethyl acetate extract of seeds and matoa seed coats. For the results of the research, the seed extract and seed coat of matoa were proven *in vitro* to be able to inhibit the activity of the α -amylase enzyme.

Keywords: Phenolic, toxicity, *Artemia salina* Leach, α -amylase enzyme, matoa seeds

PENDAHULUAN

Kemajuan bidang teknologi kesehatan saat ini telah berkembang pesat. Dalam 20 tahun terakhir berbagai macam metode penyembuhan baru terhadap penyakit dan senyawa bioaktif telah banyak ditemukan, tidak terkecuali senyawa bioaktif dari bahan alam. Pemanfaatan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia saat ini meningkat, bahkan telah diproduksi secara pabrikasi dalam skala besar. Dibandingkan dengan obat sintesis, obat tradisional mempunyai efek samping yang relative kecil dan juga lebih mudah untuk di peroleh. Sudah lama sejak masyarakat Indonesia telah mengenal dan menggunakan tanaman

berkhasiat sebagai obat tradisional (Australian Government, 2008).

Penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional sangat berkaitan dengan kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut terutama zat aktif biologisnya. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan biasanya merupakan senyawa metabolit sekunder (Kusuma, 1988 dalam Suryelita dkk., 2017).

Hampir semua bagian tanaman matoa ini mampu digunakan sebagai obat seperti daun, buah, kulit batang, kulit buah dan akarnya. Berdasarkan analisis fitokimia ditemukan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, dan terpenoid pada ekstrak etanol kulit

batang matoa. Senyawa flavonoid, tannin, dan saponin tergolong senyawa fenolik (Haerudin & Farida, 2017).

Aktivitas hipoglikemik berkaitan dengan senyawa yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan, salah satunya flavonoid. Diantara metabolit sekunder tersebut, flavonoid diperkirakan memiliki peran terbesar terjadinya efek toksik, dimana pada kadar tertentu juga dapat menyebabkan kematian terhadap hewan coba yaitu larva udang (*Artemia salina* Leach) (Bahriul dkk., 2014).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan metode yang biasa dilakukan dalam pengujian toksisitas akut karena senyawa-senyawa yang mempunyai bioaktivitas tertentu sering kali bersifat toksik terhadap larva udang (Kristanti dkk., 2008). Ekstrak uji dikatakan toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$. Metode ini sering digunakan karena relatif murah, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya (Meyer dkk., 1982).

Walaupun tumbuhan matoa dikenal secara luas, tetapi informasi terkait khasiatnya belum banyak diketahui. Salah satu nya bagian dari buah matoa yang belum banyak diketahui khasiatnya adalah biji matoa. Adapun banyak aspek penelitian yang belum dilakukan pada biji matoa seperti pengujian fitokimia, aktivitas antioksidan maupun uji efektivitas antijamur, antibakteri, pemisahan maupun isolasi senyawa murni, uji toksisitas dengan metode BSLT. Serta aktivitas penghambatan enzim glucosidase maupun α -amilase dan pengujian dengan menggunakan sel kanker payudara T47D juga belum pernah dilakukan. Berdasarkan beberapa penjelasan di atas, peneliti tertarik untuk mengetahui sifat toksisitas dan aktivitas penghambatan enzim α -amilase dari ekstrak biji dan kulit biji matoa.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan yaitu biji dan kulit biji buah matoa diperoleh dari pantai Malalayang, Manado. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah etanol, metanol, etil asetat dan *n*-heksan, kalium iodide, iodium, asam klorida, natrium karbonat, natrium klorida, reagen Folin Ciocalteu diperoleh dari E. Merck (Darmstadt, Germany), sedangkan enzim α -amilase, pati kentang, telur udang *A. salina* Leach. berkualitas komersial dan acarbose diperoleh dari Dexa Medica.

Preparasi sampel

Sebanyak 10 kg sampel buah matoa, dibersihkan lalu dikupas kulitnya, selanjutnya dipisahkan bagian daging dari bijinya. kemudian biji buah matoa dikering-anginkan selama 7 hari pada suhu ruangan (25°C) sampai biji kering, setelah itu biji dan kulit biji dipisahkan, lalu masing-masing biji dan kulit dihaluskan kemudian diblender dan disaring dengan ayakan 65 mesh sehingga diperoleh serbuk biji dan kulit biji matoa. Serbuk yang diperoleh kemudian disimpan pada wadah yang kedap udara sebelum di analisis.

Ekstraksi serbuk biji dan kulit biji matoa

Serbuk biji matoa ditimbang sebanyak 200 g dimasukkan ke dalam wadah toples. Kemudian ditambahkan 2000 mL pelarut metanol hingga serbuk terendam, berikan perlakuan yang sama pada pelarut etil asetat, dan *n*-heksan. Kemudian serbuk kulit biji matoa ditimbang 75 g dimasukkan ke dalam wadah toples. Kemudian ditambahkan 750 mL pelarut metanol hingga serbuk terendam, berikan perlakuan yang sama pada pelarut etil asetat, dan *n*-heksan. Kemudian dibiarkan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari sinar sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 3 hari serbuk disaring, hasil penyaringan yang didapat kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak yang kental.

Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode Jeong dkk. (2002). Sebanyak 0,1 mL sampel $1000\mu\text{g/mL}$ dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50% dalam tabung reaksi dan kemudian campuran dihomogenkan menggunakan vortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, ditambahkan 2 mL larutan Na_2CO_3 2%, kemudian campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada λ 750 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan kandungan total flavonoid

Kandungan total flavonoid ekstrak daging buah pala ditentukan menurut metode Meda dkk. (2005). Sebanyak 2 mL larutan ekstrak 1 mg/mL dimasukan dalam tabung reaksi lalu ditambah dengan 2 mL AlCl_3 2% yang telah dilarutkan dalam etanol, kemudian divorteks. Absorbansi ekstrak dibaca pada

spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai mg ekivalen kuesertin mg/mL ekstrak.

Penentuan kandungan tanin terkondensasi

Kandungan tanin ditentukan dengan menggunakan metode Julkunen-Tiito (1985). Sebanyak 0,5 mL ekstrak ditambahkan dengan 1,5 mL larutan vanilin-metanol 4% kemudian divortex selama 3 menit. Setelah divortex, ditambahkan lagi dengan 0,75 mL asam klorida pekat (37%). Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 500 nm setelah campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Kandungan tanin terkondensasi dinyatakan sebagai ekuivalen katekin dalam $\mu\text{g/mL}$ ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan katekin sebagai standar.

Uji toksisitas

Masing-masing larutan uji dipipet sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ekor larva udang yang telah berumur 2 hari. Masing-masing larutan uji dilakukan tiga kali pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol. Pengamatan I dilakukan selama 6 jam dengan selang waktu 1 jam. Selanjutnya pengamatan II dilakukan pada 12, 18 dan 24 jam. Jumlah larva udang yang mati dihitung tiap 6, 12, 18 dan 24 jam (Sirait, 2001). Analisis data perhitungan LC_{50} dilakukan dengan cara data % kematian ditransformasikan ke dalam log konsentrasi (Keostoni, 1985).

Aktivitas penghambatan enzim α -amilase

Uji penghambatan enzim dilakukan menggunakan metode Buthkar dkk. (2018) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 1 mL larutan pati kentang, 1 mL larutan sampel, 1 mL larutan enzim, 1 mL larutan buffer fosfat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan vortex. Kemudian diinkubasi selama 30 menit dan untuk penghentian reaksi ditambahkan 1 mL HCl 1 M, lalu tambahkan 1 mL larutan iodine-iodida. Absorbansi dibaca pada Panjang gelombang 614-550 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan menimbang 200 g serbuk biji matoa dan 75 g serbuk kulit biji matoa, kemudian dilakukan perendaman menggunakan masing-masing pelarut metanol, etil asetat, *n*-heksana sebanyak 2000 mL untuk serbuk biji matoa dan 750 mL untuk serbuk kulit biji matoa dalam wadah tertutup dan ditunggu hingga 3 x 24 jam atau selama 3 hari dan diaduk setiap hari. Setelah 3 hari masing-masing sampel disaring, lalu filtrat hasil penyaringan dipindahkan ke erlenmeyer. Evaporasi dilakukan pada masing-masing filtrat untuk mendapatkan ekstrak kental. Rendemen masing-masing sampel yang dimaserasi dengan pelarut metanol, etil asetat dan *n*-heksana ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen ekstrak biji matoa

Sampel	Rendemen (%)
Ekstrak metanol biji matoa (EMBM)	16,47
Ekstrak etil asetat biji matoa (EEABM)	23,85
Ekstrak <i>n</i> -heksana biji matoa (EHBM)	6,832
Ekstrak metanol kulit biji matoa (EMKBM)	11,63
Ekstrak etil asetat kulit biji matoa (EEAKBM)	11,36
Ekstrak <i>n</i> -heksana kulit biji matoa (EHKBM)	2,91

Dari Tabel 1, nilai rendemen serbuk kulit biji yang dimaserasi menggunakan pelarut metanol, etil asetat, dan *n*-heksana, EMBM (ekstrak biji matoa yang diekstraksi dengan metanol), EEABM (ekstrak biji matoa yang diekstraksi dengan etil asetat) EHBM (ekstrak biji matoa yang diekstraksi dengan *n*-heksana),

berturut-turut adalah 16,47%, 23,85% dan 6,83% dan nilai rendemen EMKBM (ekstrak kulit biji matoa yang diekstraksi dengan metanol) EEAKBM (ekstrak kulit biji matoa yang diekstraksi dengan etil asetat), EHKBM (ekstrak kulit biji matoa yang diekstraksi dengan *n*-heksana) berturut-turut adalah

11.63%, 11.36% dan 2.91%.. Berdasarkan data yang diperoleh sampel EEABM memiliki nilai rendemen paling tinggi. Hal ini diduga karena saat serbuk biji matoa direndam, pelarut tidak homogen karena karakteristik fisik serbuk biji matoa menyerupai tepung. Sehingga saat filtrat di evaporasi yang dihasilkan yaitu ekstrak kental berminyak. Menurut Tensiska dkk. (2007) etil asetat merupakan pelarut yang mudah diuapkan. Etil asetat merupakan pelarut dengan karakteristik semipolar sehingga secara selektif mampu menarik senyawa yang bersifat semipolar seperti fenol dan terpenoid.

Kandungan total fenolik, flavanoid dan tanin terkondensasi

Kandungan total fenolik dapat ditentukan secara spektrofotometri dengan reagen Folin-Ciocalteu. Metode ini memiliki keuntungan yaitu sederhana, dapat diulang, hasil

yang akurat dan telah digunakan secara luas (Huang dkk., 2005; Fu dkk., 2011; Berker dkk., 2013).

Untuk penentuan kandungan total flavonoid menggunakan prinsip dari metode $AlCl_3$ yaitu pembentukan kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol (Cahyanta, 2016). Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin atau *Quersetin Equivalent* (QE).

Kandungan tanin terkondensasi dari ekstrak biji dan kulit biji matoa menggunakan prinsip uji vanilin-HCl dalam penentuan kandungan tanin terkondensasi yaitu vanilin terprotonasi dalam asam, membentuk karbokation dan bereaksi dengan flavonoid. Senyawa antara yang dihasilkan mengalami reaksi dehidrasi dan menghasilkan senyawa berwarna ungu atau merah

Tabel 2. Kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi dari ekstrak biji dan kulit biji matoa (1000 $\mu\text{g/mL}$)

Sampel	Kandungan total fenolik ($\mu\text{g/mL}$)	Kandungan total flavanoid ($\mu\text{g/mL}$)	Kandungan tanin terkondensasi ($\mu\text{g/mL}$)
EMBM	11,31 \pm 0,75 ^c	1,88 \pm 0,49 ^b	31,485 \pm 1,7 ^c
EEABM	8,69 \pm 0,49 ^d	0,74 \pm 0,04 ^c	27,300 \pm 1,26 ^c
EHBM	8,25 \pm 0,41 ^d	0,51 \pm 0,06 ^c	23,893 \pm 2,96 ^d
EMKBM	213,88 \pm 0,57 ^a	10,64 \pm 1,11 ^a	71,485 \pm 3,96 ^a
EEAKBM	191,86 \pm 0,54 ^b	10,01 \pm 0,38 ^a	66,781 \pm 3,41 ^a
EHKBM	8,79 \pm 0,52 ^d	0,67 \pm 0,16 ^c	56,819 \pm 1,22 ^b

Singkatan sama seperti pada Tabel 1.

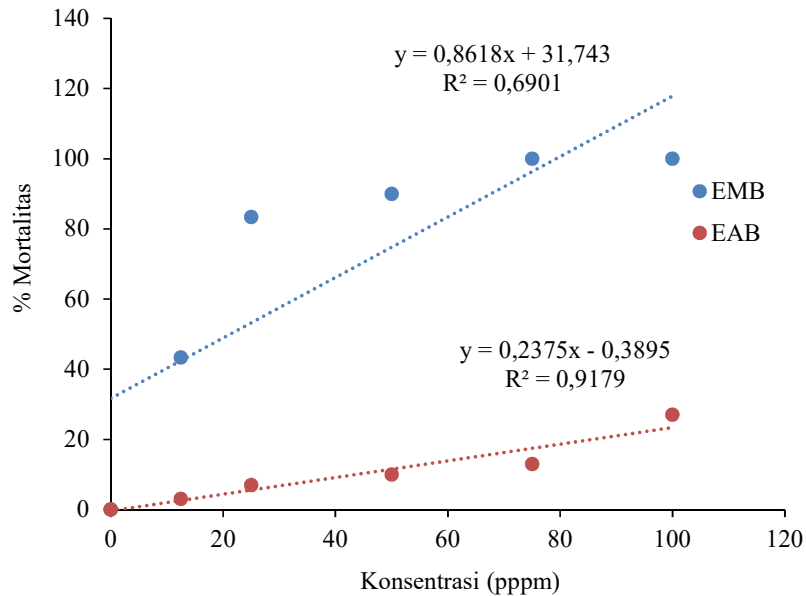
Hasil analisis kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi dari ekstrak EMBM, EEABM, EHBM, EMKBM, EEAKBM dan EHKBM dapat dilihat pada Tabel 2. Berdasarkan Tabel 2, hasil data analisis kandungan total fenolik, untuk ekstrak biji dan kulit biji berbanding lurus dengan data flavonoid dan tanin terkondensasi. Dimana ekstrak kulit biji matoa dominan lebih tinggi untuk hasil kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi dibandingkan ekstrak biji matoa yang menunjukkan hasil yang lebih rendah. Menggunakan asam galat sebagai standar total fenolik pada sampel karena asam galat termasuk dalam kategori fenol alami yang stabil. Ketika asam galat direaksikan dengan reagen Folin-

Ciocalteu akan terjadi perubahan warna menjadi warna biru (Ahmad dkk., 2015)

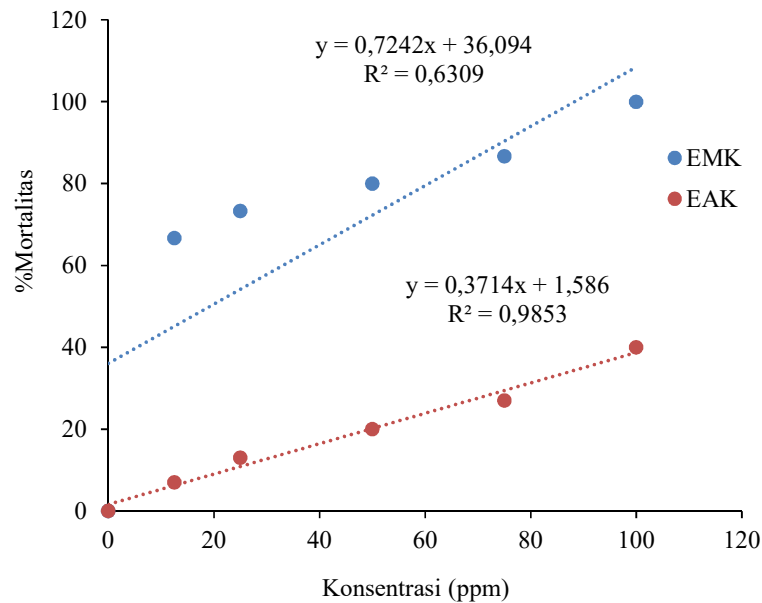
Uji toksisitas

Prosedur uji BSLT yaitu dengan menentukan nilai LC_{50} dari aktivitas bahan uji terhadap larva *Artemia salina* selama 24 jam. LC_{50} merupakan konsentrasi dimana suatu ekstrak dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji yang diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier (Rita dkk., 2008).

Data hasil pengujian toksisitas pada penelitian ini dilakukan analisis probit kemudian diolah menggunakan *Microsoft Excel* untuk mencari regresi linear berdasarkan grafik garis. Dari grafik tersebut didapatkan persamaan $y=ax + b$ dan nilai R square (R^2).



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi dan mortalitas larva ekstrak EMB dan EAB Singkatan sama seperti pada Tabel 1.



Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi dan mortalitas larva ekstrak EMK dan EAK Singkatan sama seperti pada Tabel 1.

Pada Gambar 1 dan 2 menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi ekstrak yang diberikan mempengaruhi jumlah kematian larva udang. Dari gambar tersebut dapat dilihat bahwa kenaikan konsentrasi ekstrak metanol biji dan kulit biji mataoa selalu diikuti dengan kenaikan presentase kematian larva udang *Artemia salina*

L. semakin besar nilai konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka mortalitas pada *Artemia salina* L. juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa setiap zat kimia apabila diberikan dengan dosis cukup besar akan menimbulkan gejala-gejala yang semakin meningkat (Lu, 2006).

Tabel 3. Nilai LC₅₀ dari ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat dari biji dan kulit biji mataoa

Sampel	Jenis Ekstrak	Nilai LC ₅₀ (ppm)
Biji mataoa	Ekstrak metanol (EM)	12,92
	Ekstrak etil asetat (EEA)	466,43
Kulit biji mataoa	Ekstrak metanol (EM)	4,92
	Ekstrak etil asetat (EEA)	197,24

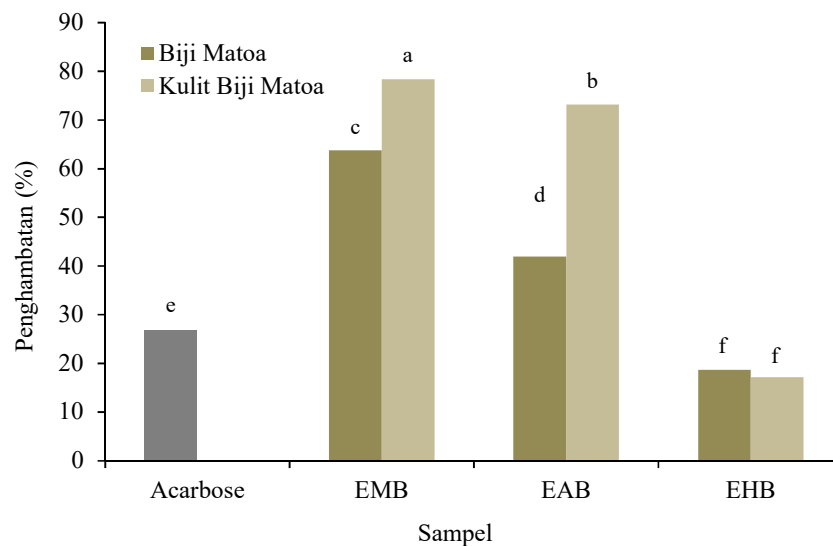
Dari Tabel 3 didapatkan bahwa ekstrak metanol biji dan kulit biji mataoa mempunyai potensi toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* L. Ekstrak metanol (EM) kulit biji mataoa memiliki potensi paling tinggi karena nilai LC₅₀ 4,92 ppm, diikuti ekstrak metanol biji mataoa yaitu 12,92 ppm. Suatu senyawa dikategorikan sangat toksik jika memiliki nilai LC₅₀ kurang dari 30 ppm, dikategorikan toksik jika memiliki nilai LC₅₀ 30-1000 ppm, dan dikategorikan tidak toksik jika memiliki harga LC₅₀ di atas 1000 ppm (Meyer dkk., 1982).

Faktor lainnya juga pada mekanisme kematian larva *Artemia salina* yang mungkin terjadi adalah berhubungan dengan fungsi senyawa fenolik, flavonoid dan juga tanin yang dapat menghambat daya makan larva (*antifedant*). Cara kerja senyawa-senyawa tersebut adalah dengan bertindak sebagai *stomach poisoning* atau racun perut. Oleh karena itu, bila senyawa-senyawa ini masuk ke dalam tubuh larva, alat pencernaannya akan

terganggu. Senyawa ini menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva. Hal ini mengakibatkan larva gagal mendapatkan stimulus rasa sehingga tidak mampu mengenali makanannya, dan akibatnya larva mati kelaparan (Rita dkk., 2008).

Aktivitas penghambatan enzim α -amilase

Prinsip pengujian sampel yaitu semakin aktif ekstrak yang digunakan, maka semakin sedikit pati yang terhidrolisis sehingga glukosa yang dihasilkan semakin sedikit, karena ekstrak dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase. Aktivitas enzim α -amilase yang dihambat oleh ekstrak tidak dapat bereaksi dengan substrat amilum, sehingga intensitas warna yang dihasilkan akan semakin berkurang (Afriyanti, 2015). Hasil data yang didapatkan antara ekstrak biji mataoa dengan pembanding (acarbose) dapat dilihat pada Tabel 4.



Gambar 3. Aktivitas penghambatan enzim α -amilase ekstrak biji dan kulit biji mataoa (1000 μ g/mL) Singkatan sama seperti pada Tabel 1.

Pada penelitian ini digunakan acarbose sebagai pembanding. Acarbose sendiri merupakan obat antidiabetes yang dapat memperlambat absorpsi gula setelah makan yaitu dengan menunda hidrolisis karbohidrat, disakarida dan absorpsi glukosa; serta menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (You dkk., 2012). Konsentrasi pembanding acarbose dibuat sama dengan sampel yaitu 1000 ppm dengan % penghambatan sebesar 26,71%.

KESIMPULAN

Hasil ekstraksi maserasi menghasilkan rendemen terbesar terdapat pada ekstrak etil asetat biji matoa. Ekstrak biji matoa dan kulit biji matoa mengandung senyawa fenolik tetapi ekstrak kulit biji matoa yang memiliki kandungan total fenolik tertinggi. Nilai LC₅₀ menunjukkan ekstrak metanol biji dan kulit biji matoa bersifat sangat toksik dibandingkan ekstrak etil asetat, serta dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak biji dan kulit biji matoa mampu menghambat enzim α -amilase secara *in-vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Australian Government. 2008. Departement Health and Ageing Office of the Gene Technology Regulator: The Biology of *Carica papaya* L.
- Bhutkar, M., Bhinge, S., Randive, D., Wadkar, G., & Todkar, S. 2018. Studies on glucose adsorption capacity of some indigenous plants. *Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 5(1), 1-4.
- Haerudin, A., & Farida, F. F. 2017. Limbah serutan kayu matoa (*Pometia pinnata*) sebagai zat warna alam pada kain batik serat selulosa. *Dinamika Kerajinan dan Batik*. 34(1), 43-52.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R.I. 2005. The Chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 53(6), 1841-1856.
- Indrayani, L., Soetjipto, H., & Sihasale, L. 2006. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Berkala Penelitian Hayati*. 12(1), 57-61.
- Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Jo, S. C., Nam, K. C, Ahn, D.U., & Lee, S. C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 52(11), 3389-3393.
- Julkenen-Titto, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolic. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 33(1), 213-217.
- Lu, F.C., 2006. *Toksikologi Dasar Asas Organ Sasaran dan Penilaian Resiko, Edisi II*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Makkar, H.P.S. 1993. *Antinutritional Factor in Food for Livestock in Animal Producing in Developing Country*. British Society of Animal Production. England.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millog, J., & Nacoulma, O.G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan Honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 91(2), 571-577.
- Meyer, H. N. 1982. *Brine Shrimp Lethality Test*. *Med. Plant Research*. 45(5), 31-34.
- Muaja, A.D., Koleangan. H.S.J., & Runtuwene, M.R.J. 2013. Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak daun soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan metode soxhletasi. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 2(2), 115-228.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., & Kamu, V.S. 2013. Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 2(2), 128-132.
- Pamangin, Y.C., Pratiwi, R.D., & Dirgantara, S. 2020. Pemanfaatan limbah kulit buah matoa (*Pometia pinnata*) asal Papua menjadi minuman effervescent yang berantioksidan tinggi. *Jurnal Kimia*. 4(1), 52-62.
- Rita, W. S., Suirta, I.W., & Sabikin, A. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa yang berpotensi sebagai antitumor pada daging buah pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*. 2(1), 1907-9850.

- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I., & Makang, V.M. 2019. Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1(1), 47-53.
- Scheuer, J.S. 1994. *Produk Alami Lautan*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Schmitz, G. 2003. *Farmakologi dan Toksikologi: Edisi 3*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Sirait, M. 2001. *Pengembangan Obat Bahan Alam. Edisi ke-4*. Jakarta: Perhimpunan Peneliti Bahan Obat.
- Surya, A. 2018. Toksisitas ekstrak daun mataoa (*Pometia pinnata*) terhadap larva (*Artemia salina* L) dengan metode brine shrimp lethality test. *Jurnal Analisis Kesehatan Klinikal Sains*. 6(1), 13-17.
- Surhano & Rosye, & Tanjung, H.R. 2011. Mataoa (*Pometia Sp*) Potensi Domestifikasi dan Pembudidayaannya. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar.
- Suedee A, 2012. Phytochemical Studie of Mimusops elengi and *Pometia pinnata* Leaf Extract with Anti-HIV-I Integrase Activity, Songkla (TH): Prince of Songkla University.
- Tahir, M., Muflihunna, A., & Syafrianti. Penentuan kadar fenolik total ekstrak etanol daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan metode spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 4(1), 215-218.
- Tensiska & Sukarminah, E. 2007. Ekstraksi pewarna alami dari buah arben dan aplikasinya pada sistem pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 2(3), 25-31.
- You, Q., Chen, F., Wang, X., Jiang, Y., & Lin, S. 2012. Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against alpha glucosidase and pancreatic lipase. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*. 46(1), 164-168.