Evaluasi toksisitas Madu hasil produksi lebah yang diberi pakan tambahan ekstrak air *Moringa oleifera* terhadap larva *Artemia salina*

Aliyah^{1*}, Veni Hadju², Muhammad Dasir³, Andi Sadapoto³, Budiaman³, Muhammad Raihan¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

²Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

³Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

ABSTRAK

Madu dan *Moringa oleifera* merupakan salah satu bahan alam yang memiliki nilai nutrisi dan potensi sebagai bahan obat yang cukup besar. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi toksisitas madu hasil ternak lebah yang diberi pakan sirup sukrosa dengan suplementasi *M. oleifera* menggunakan *Artemia salina* sebagai hewan model. Komponen madu kelor (MK) dan *M. oleifera* mula-mula dianalisis dengan menggunakan sistem HPTLC dengan fase gerak terdiri dari n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 2:1. Toksisitas MK kemudian diuji menggunakan *A. salina* sebagai model organisme dengan konsentrasi antara 10 hingga 2000 µg / ml dalam media air laut buatan. Tingkat kematian dilaporkan dalam persentase *A. salina* jumlah larva yang mati terhadap total larva yang diuji. Nilai LC₅₀ dihitung

dengan menggunakan analisis probit. Hasil analisis pada penelitian ini menunjukkan bahwa beberapa komponen *M. oleifera* dapat dideteksi pada MK berdasarkan nilai Rf yang diperoleh dalam analisis HPTLC. Selanjutnya, berdasarkan nilai LC₅₀ dalam penelitian ini, MK dianggap sebagai bahan dengan toksisitas yang rendah. Namun, penelusuran lebih lanjut pada komponen fitokimia yang bertanggung jawab pada toksisitas ini perlu dilakukan untuk melihat korelasinya dengan toksisitas MK.

Kata kunci : Madu Kelor, Toksisitas, *Artemia salina*, *Moringa oleifera*

ABSTRACT

Honey and *Moringa oleifera* are both natural products that have high nutritional and medicinal values. This study aims to evaluate the toxicity of honey obtained from bees that were fed with sucrose syrup supplemented with *M. oleifera* juice using *Artemia salina* as the animal model. The component of Moringa Honey (MH) and *M. oleifera* was initially examined using HPTLC systems with mobile phase consisted of n-hexane and ethyl acetate at a ratio of 2:1. The toxicity of MH was examined using *Artemia salina* as the model organism starting at the concentration of 0 to 2000 µg/ml of MH in a saltwater medium. The mortality rates

were reported in percentages of dead *A. salina* larvae and the LC₅₀ value was calculated using probit analysis. Our finding suggested that constituents of *M. oleifera* might be present in MH based on the Rf values obtained in the HPTLC analysis. Furthermore, the LC₅₀ value of MH in this assay is considered as low toxic and further investigation on the corresponding phytochemical is required to correlate the toxicity of MH.

Keywords: Moringa Honey, Toxicity, *Artemia salina*, *Moringa oleifera*

Penulis Korespondensi :

Aliyah

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin,

E-mail : aliyahputranto@yahoo.co.id

Informasi Artikel

Submitted : 20 Juni 2021

Accepted : 29 Juni 2021

Published : 30 Juni 2021

PENDAHULUAN

Madu adalah salah satu produk lebah yang telah digunakan selama berabad-abad karena nilai gizi dan potensinya sebagai obat bahan alam. Berbagai penelitian telah melaporkan bahwa madu dapat menunjukkan aktivitas farmakologis potensial terutama sebagai antioksidan (Biluca et al., 2020; Erejuwa et al., 2012; Estevinho et al., 2008), antikanker (Erejuwa et al., 2014) dan agen antimikroba (Israili, 2014; Kwakman & Zaat, 2012). Meskipun secara umum komposisi utama madu sebagian besar adalah senyawa gula seperti glukosa dan fruktosa tetapi beberapa metabolit sekunder tanaman seperti fenolat dan flavonoid juga dapat ditemukan. Senyawa seperti asam caffeic, asam caffeic phenyl ester, pinocembrin, chrysin, dan galangin adalah beberapa metabolit yang paling sering dilaporkan (Oroian & Ropciuc, 2017). Senyawa ini dianggap sebagai zat dalam madu yang bertanggung jawab atas aktivitasnya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa komponen fitokimia yang terdapat dalam madu sangat dipengaruhi oleh spesies tumbuhan di sekitarnya. Sebuah studi baru-baru ini juga menunjukkan bahwa DNA bunga di sekitarnya dapat dilacak dalam madu yang menunjukkan bahwa komponen tanaman dapat digabungkan ke dalam madu yang dikumpulkan (Olivieri et al., 2012; Wirta et al., 2021). Lebah madu juga telah dilaporkan sebelumnya dapat membawa

senyawa fitokimia tertentu ke dalam produk lebah termasuk madu (Rowland et al., 1995).

Sebelumnya telah dilaporkan bahwa kombinasi madu dan *M. oleifera* bermanfaat untuk mengurangi risiko stres oksidatif dan menghambat paparan radikal bebas pada wanita hamil dan ibu dengan bayi baru lahir (Hadju et al., 2020). Tanaman *M. oleifera* sendiri dianggap sebagai sumber makanan bergizi di beberapa negara di Asia dan Afrika (Shindano & Kasase, 2009). Daun, khususnya, telah dilaporkan mengandung nilai gizi tinggi seperti mineral (kalsium, magnesium, tembaga, besi, seng dan selenium) (Moyo et al., 2011), dan antioksidan seperti vitamin B, karotenoid, serta asam amino esensial yaitu lisin, leusin, asam glutamat dan asam aspartat (Foidl et al., 2001; Gopalakrishnan et al., 2016). Berdasarkan nilai gizi *M. oleifera* dan madu serta potensinya bila digabungkan, maka pada penelitian ini, dilakukan uji toksisitas Madu Kelor (MK) yang diproduksi dengan menambahkan pakan lebah madu dengan jus *M. oleifera*.

Meskipun *M. oleifera* dianggap sebagai sumber makanan di beberapa negara, masih ada beberapa penelitian yang melaporkan bukti toksisitas dalam *M. oleifera* komponendan dengan demikian lebih lanjut merekomendasikan batas konsumsinya (Obi, 2018; Rajeh et al., 2012). Berdasarkan hal tersebut, *Artemia salina* sebagai salah satu hewan

model yang paling sering digunakan dapat digunakan sebagai model pengujian dalam uji toksisitas MK. Telah dilaporkan bahwa toksisitas ekstrak dan produk alami sebanding dengan pengujian pada hewan pengerat seperti pada mencit dan mencit (Parra et al., 2001; Rajeh et al., 2012). Oleh karena itu, dalam penelitian ini kami bertujuan untuk mengevaluasi toksisitas madu yang diperoleh dari lebah yang diberi makan *M. oleifera* jus menggunakan *A. salina* sebagai hewan model.

METODE PENELITIAN

A. Sumber madu

Madu yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari satu koloni *Apis mellifera* yang dikembangkan secara tertutup dan tidak memiliki akses pada sumber flora secara bebas. Madu yang diperoleh kemudian disimpan dalam wadah tertutup dan dicegah makan dari bunga lain di sekitarnya. Lebah diberi sirup sukrosa (terdiri dari 85% b/v sukrosa) yang dikombinasikan dengan *M. oleifera* jus daun dengan perbandingan masing-masing 80:20. *M. oleifera* jus disiapkan dengan menggiling 500 g daun segar *M. oleifera* dengan 20 ml air deionisasi. Pemberian pakan dilakukan setiap hari selama 14 hari secara *ad libitum*. Pada hari ke 15, madu dikumpulkan dan disimpan dalam freezer sebelum diuji terhadap *A. salina*.

B. Persiapan larva *A. salina*

Awalnya, air laut buatan disiapkan dengan melarutkan 38 g NaCl dalam 1 L air steril deionisasi (d disesuaikan dengan pH 8,0 dengan NaOH 1N). Larutan kemudian disaring, dan dipindahkan ke dalam bejana kaca setelah disterilisasi menggunakan autoklaf. Medium tersebut kemudian didinginkan hingga suhu kamar dan digunakan sebagai media untuk menetas *A. salina* telur. Prosedur penetasan dilakukan dengan mendispersikan 25 mg telur ke dalam 500 ml air asin. Telur-telur tersebut kemudian dibiarkan didispersikan dengan bantuan bubble aerator selama 24 jam dalam ruangan gelap kemudian dipindahkan ke dalam kompartemen yang dilengkapi dengan penerangan yang tersedia selama 12 jam, sehingga proses penetasan terhitung selama 36 jam.

C. Pembuatan konsentrasi MK

Sebanyak 125 mg MK diencerkan dalam 25 ml air laut yang telah disiapkan sebelumnya sehingga diperoleh konsentrasi larutan stok 5 mg/ml. Kemudian, larutan ini dipindahkan ke dalam vial 10 ml untuk membuat rangkaian konsentrasi 100, 250, 500, 1000, 1500 dan 2000 g/ml. Volume total untuk setiap konsentrasi dihitung masing-masing 5 ml, tetapi volume dibuat hanya menjadi 4 ml untuk memberikan ruang tambahan untuk 1 ml

air asin ketika larva dipindahkan ke dalam vial. Kontrol dilakukan dengan menggunakan media air asin tanpa sampel MK.

D. Uji Udang Air Garam MK

Dalam setiap larutan yang disiapkan, 10 larva dipindahkan dan di pada suhu kamar. Setelah 24 jam, larva yang bertahan hidup dihitung dan persentase kematian dihitung dengan membandingkan rata-rata jumlah kelangsungan hidup dengan total larva. Semua perlakuan dilakukan dalam tiga replikasi. Nilai LC₅₀ kemudian dihitung menggunakan analisis probit. Selain itu, pemeriksaan morfologi larva yang masih hidup dan yang mati dilakukan dengan menggunakan mikroskop standar. Kategori toksisitas kemudian ditunjukkan dengan menggunakan interpretasi dari kriteria Clarkson (2004) seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 1** di bawah ini.

Tabel 1. Kriteria toksisitas berdasarkan nilai LC₅₀ dalam g/ml (Clarkson et al., 2004)

Kriteria Toksisitas	nilai LC ₅₀ (µg/ml)
Sangat toksik	0 – 100
Toksisitas sedang	100 – 500

Toksisitas rendah 500 – 1000

Tidak toksik > 1000

E. Pemeriksaan kandungan MK menggunakan High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC)

Untuk mengamati ada tidaknya komponen *M. oleifera* dalam madu yang diambil, dilakukan identifikasi profil KLT dari sampel madu. Madu sebanyak 15 g mula-mula dilarutkan dalam air kemudian dipartisi sebanyak tiga kali menggunakan 20 ml etil asetat. Lapisan organik kemudian dikumpulkan dan pelarut diuapkan dengan bantuan evaporasi putar. Sebanyak 15 g *M. oleifera* kemudian dihaluskan menggunakan mortar dan pestel kemudian ditambahkan dengan 20 ml air dan disaring untuk memisahkan fase padat. Cairan yang diperoleh kemudian dipartisi 3 kali menggunakan 20 ml etil asetat lalu lapisan organik digabungkan kemudian diuapkan. Semua sampel kemudian dipartisi dengan metode yang sama masing-masing tiga kali untuk MK dan *M. oleifera*. Semua sampel yang diperoleh ditotolkan pada lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ (Merck®) ukuran 5×10 cm. KLT kemudian dikembangkan menggunakan campuran etil asetat dan n-heksana dengan perbandingan 2:1. Selanjutnya, pelat dipindai menggunakan CAMAG® TLC Scanner 3 di bawah

panjang gelombang pengamatan 254 nm. Spot-spot yang diidentifikasi di setiap sampel dibandingkan dengan menggunakan faktor retardasi (Rf) yang diperoleh

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dengan mempertimbangkan nilai gizi dan manfaat madu dan *M. oleifera* daun serta pentingnya keamanan produk alami untuk konsumsi manusia, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi toksisitas madu yang dihasilkan oleh lebah yang diberi tambahan pakan jus *M. oleifera* dengan menggunakan larva udang *A. salina* sebagai model uji. Pertama-tama, untuk mengamati ada tidaknya komponen *M. oleifera* dalam madu yang diproduksi, maka dilakukan skrining kualitatif menggunakan HPTLC dengan membandingkan profil KLT madu dengan jus *M. oleifera*. Seperti yang

ditunjukkan pada **Gambar 1**, komponen *M. oleifera* ditemukan dalam madu yang diperoleh. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa pada nilai Rf $0,83 \pm 0,00$, $0,38 \pm 0,01$, $0,26 \pm 0,00$ dan $0,08 \pm 0,00$ diidentifikasi pada kedua sampel tetapi dalam konsentrasi relatif berbeda yang ditunjukkan oleh AUC (**Tabel 2.**). Keberadaan senyawa kimia dari tumbuhan juga telah dilaporkan sebelumnya pada madu di sekitar pulau Jawa dan Sumbawa di Indonesia (Yelin & Kuntadi, 2019). Meskipun temuan ini menunjukkan bahwa komponen *M. oleifera* telah terbukti dapat ditemukan dalam madu yang dihasilkan dalam penelitian ini, perlu dilakukan penelusuran lebih lanjut untuk menentukan atau memprediksi struktur senyawa di setiap komponen yang telah dideteksi.

Tabel 2. Perbandingan profil TLC dalam hal RF dan AUC dari bintik-bintik serupa yang ditemukan pada madu kelor dan jus *M.oleifera* yang diperiksa di bawah sinar UV 254 nm menggunakan sistem HPTLC.

Spot TLC Teridentifikasi	Nilai Rf rata-rata (n=3)		Rata-rata AUC (n=3)			
	MK	MO	MK	MO		
Spot 1	0.83 0.00	± 0.82 0.01	± 5726.23 450.4	± 4819.90 201.0	±	
Spot 2	0.39 ± 0.01	0.38 0.01	± 587.97 198.8	± 3874.87 443.4	±	

Spot 3	0.29 0.01	± 0.26 0.00	± 2458.53 117.6	± 10935.57 1253.4
Spot 4	0.07 0.00	± 0.08 0.00	± 449.23 188.9	± 1221.73 ± 82.4

MK= Madu Kelor, MO= *M.oleifera*

Gambar 1. Profil HPTLC dari HPTLC profiles of honey produced by feeding bees with *M.oleifera* juice (A-C, replicated spots) compared to the profiles of *M.oleifera* juice alone (D-F, replicated spots).

Tahap awal dari toksisitas pengujian menggunakan *A. salina* dilakukan dengan melakukan uji pada konsentrasi MK yang meningkat dimulai dengan konsentrasi 0,1, 1, 100, 1000 dan 5000 µg / mL. Data yang diperoleh dari pengujian awal menunjukkan tanda-tanda kematian (**Tabel 3**) *A. salina* larva mulai dari konsentrasi 100 hingga 5000 g/mL. Khusus untuk konsentrasi 1000 g/mL, kematian larva udang ditemukan 100%. Oleh karena itu, deret konsentrasi kemudian disusun kembali menggunakan deret baru mulai dari 100, 250, 500, 1000 dan 2000 g/mL untuk mendapatkan nilai LC_{50} yang lebih

presisi. Nilai LC_{50} kemudian diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi dengan menggunakan nilai-nilai probit dari yang sesuai persentase kematian larva. Nilai probit yang diperoleh kemudian diplot terhadap skala logaritmik untuk konsentrasi (log C) seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 2**. Dari kurva kalibrasi diketahui bahwa nilai probit persentase mortalitas *A. salina* larva menunjukkan hasil yang cukup linier ($r = 0,961$). Dari persamaan ini, LC_{50} nilai untuk *A. salina* larva kelor madu kemudian dihitung dan nilai LC_{50} diperoleh pada 614,58 µg / mL. Berdasarkan kategori toksisitas pada

Tabel 1, madu kelor tergolong toksisitas rendah.

Tabel 3. Hasil pengamatan setelah uji toksisitas 24 jam menggunakan larva *A.salinaprobitnya* terhadap MK dan analisis(n=3).

Konsentrasi (µg/mL)	Log C	Mortalitas			Jumlah larva	Mortality (%)			Rata-rata % Mortalitas	Nilai Probit
		R1	R2	R3		R1	R2	R3		
100	2.00	1	0	0	10	10	0	0	3.33	3.12
250	2.40	1	1	2	10	10	10	20	13.33	3.87
500	2.70	2	3	3	10	20	30	30	26.67	4.39
1000	3.00	5	7	7	10	50	70	70	63.33	5.33
1500	3.18	8	9	9	10	80	90	90	86.67	6.13
2000	3.30	10	9	10	10	100	90	100	96.67	6.88
Negative Control	-	0	0	0	10	0	0	0	0.0	3.12

Gambar 2. Kurva kalibrasi nilai probit diperoleh dari persentase mortalitas (n=10) yang diplot terhadap skala logaritmik konsentrasi Madu Kelor (MK) yang diuji.

Untuk mengamati pengaruh MK pada *A. salina* larva setelah 24 jam pengujian, larva diperiksa di bawah mikroskop. Secara umum organ-organ

yang dapat diamati dapat dilihat pada **Gambar 3**. Pada pengamatan mikroskopis, larva *A. salina* yang masih hidup menunjukkan pergerakan aktif dan

tidak ditemukan tanda-tanda kerusakan organ dibandingkan dengan larva yang mati. Selanjutnya larva yang mati menunjukkan tanda-tanda kerusakan pada thorax, antena dan abdomen yang menunjukkan perubahan warna yang

lebih gelap dan tidak terlihat adanya pergerakan. Perbedaan morfologi antara larva mati dan larva hidup serta organ yang diamati secara umum dapat dilihat pada **Gambar 3**.

Gambar 3. Pengamatan mikroskopis larva *A. salina* setelah 24 jam pengujian toksisitas dalam berbagai media yang mengandung Madu Kelor (MK). Larva yang mati diamati tidak bergerak dengan warna lebih gelap di sekitar organ (A), dibandingkan dengan larva yang masih hidup (B) tidak menunjukkan cacat morfologi. Larva yang mati pada bagian A dan B juga dibandingkan dengan gambar pada bagian C yang menunjukkan sekumpulan organ pada *A. salina*: bagian perut larva yang mati (A1) dan antenanya (A2), toraks (B1) dan perut larva hidup (B2) dapat dibandingkan dengan warna gelap larva thorax mati (C1).

Secara umum, madu dianggap aman untuk dikonsumsi setiap hari. Pada umumnya, *M. oleifera* juga telah dikonsumsi di beberapa belahan dunia. Namun, penelitian juga melaporkan bahwa *M. oleifera* menunjukkan toksisitas pada *A. salina*, *Biomphalaria glabra* dan tikus yakni dengan nilai LD₅₀ >1 mg/ml (Obi, 2018), 2,37 mg/ml (Rocha-Filho et al., 2015), 1585 mg/kg (Awodele et al.,

2012), secara berturut-turut. Dalam penelitian ini, kami menemukan bahwa MK memiliki toksisitas yang rendah tetapi komponen utama yang bertanggung jawab atas toksisitas MK ini masih belum diketahui. Telah dilaporkan bahwa *M. oleifera* mengandung tanin (8,2%), saponin (1,7%), alkaloid (0,42%) dan senyawa fenolik (0,19%) sebagai metabolit sekundernya (Ojiako, 2014) tetapi

korelasinya dengan toksisitasnya harus diselidiki lebih lanjut. Selanjutnya, dalam uji antikanker ekstrak larut air dari *M.oleifera*, juga dilaporkan bahwa ekstrak dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis sel kanker khususnya pada konsentrasi sekitar 300 µg / ml (Jung, 2014) yang mengindikasikan bahwa potensi sitotoksik tanaman ini juga perlu menjadi perhatian. Adedapo et.al (2009) menyarankan bahwa ekstrak air *M. oleifera* meningkatkan ALT dan AST tikus pada perkiraan dosis 400 hingga 1600 mg/kg tetapi tidak ada tanda-tanda kematian tikus bahkan setelah pemberian akut 2000 mg/kg ekstrak air *M. oleifera* (Adedapo et al., 2009). Berdasarkan pengetahuan tersebut, direkomendasikan pemeriksaan lebih lanjut tentang komposisi kimia dari MK dan hubungannya dengan toksisitas yang ditemukan dalam penelitian ini.

KESIMPULAN

Dalam penelitian ini dilaporkan bahwa madu yang dihasilkan dari pemberian pakan *A. mellifera* dengan suplementasi *M.oleifera* jus menunjukkan adanya konstituen fitokimia *M.oleifera* yang diidentifikasi dengan HPTLC kualitatif. Uji toksisitas yang dilakukan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa madu yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki toksisitas rendah dengan LC₅₀ berupa 614,58 µg / mL. Oleh karena itu, direkomendasikan penelitian lebih lanjut

tentang senyawa yang mungkin ada dalam MK dan untuk menjawab apakah senyawa tersebut bertanggung jawab terhadap profil toksisitas madu ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adedapo, A. A., Mogbojuri, O. M., & Emikpe, B. O. (2009). Safety evaluations of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleifera* in rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(8), 586–591.
- Awodele, O., Oreagba, I. A., Odoma, S., da Silva, J. A. T., & Osunkalu, V. O. (2012). Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* Lam.(Moringaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 139(2), 330–336.
- Biluca, F. C., da Silva, B., Caon, T., Mohr, E. T. B., Vieira, G. N., Gonzaga, L. V., Vitali, L., Micke, G., Fett, R., & Dalmarco, E. M. (2020). Investigation of phenolic compounds, antioxidant and anti-inflammatory activities in stingless bee honey (Meliponinae). *Food Research International*, 129, 108756.
- Clarkson, C., Maharaj, V. J., Crouch, N. R., Grace, O. M., Pillay, P., Matsabisa, M. G., Bhagwandin, N., Smith, P. J., & Folb, P. I. (2004). In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2–3), 177–191.
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., & Ab Wahab, M. S. (2012). Honey: a novel antioxidant. *Molecules*, 17(4), 4400–4423.
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., & Wahab, M. S. A. (2014). Effects of honey and its mechanisms of action on the development and progression of cancer. *Molecules*, 19(2), 2497–2522.
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., & Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of

- Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3774–3779.
- Foidl, N., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001). The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. *What Development Potential for Moringa Products*, 20.
- Gopalakrishnan, L., Doriya, K., & Kumar, D. S. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*, 5(2), 49–56.
- Hadju, V., Dassir, M., Sadapotto, A., Putranto, A., Marks, G., & Arundhana, A. I. (2020). Effects of *Moringa Oleifera* Leaves and Honey Supplementation during Pregnancy on Mothers and Newborns: A Review of the Current Evidence. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 8(F), 208–214.
- Israili, Z. H. (2014). Antimicrobial properties of honey. *American Journal of Therapeutics*, 21(4), 304–323.
- Jung, I. L. (2014). Soluble extract from *Moringa oleifera* leaves with a new anticancer activity. *PloS One*, 9(4), e95492.
- Kwakman, P. H. S., & Zaat, S. A. J. (2012). Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*, 64(1), 48–55.
- Moyo, B., Masika, P. J., Hugo, A., & Muchenje, V. (2011). Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology*, 10(60), 12925–12933.
- Obi, O. O. O. B. C. (2018). Phytochemical, Anti-nutritional and Toxicity Assessment of *Moringa Oleifera* Seeds, Stem Bark and Leaves Using Brine Shrimp (*Artemia Salina*) Assay. *Jordan Journal of Chemistry (JJC)*, 13(3), 171–178.
- Ojiako, E. N. (2014). Phytochemical analysis and antimicrobial screening of *Moringa oleifera* leaves extract. *International Journal of Engineering Science*, 3, 32–35.
- Olivieri, C., Marota, I., Rollo, F., & Luciani, S. (2012). Tracking plant, fungal, and bacterial DNA in honey specimens. *Journal of Forensic Sciences*, 57(1), 222–227.
- Oroian, M., & Ropciuc, S. (2017). Honey authentication based on physicochemical parameters and phenolic compounds. *Computers and Electronics in Agriculture*, 138, 148–156.
- Parra, A. L., Yhebra, R. S., Sardiñas, I. G., & Buela, L. I. (2001). Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*, 8(5), 395–400.
- Rajeh, M. A. B., Kwan, Y. P., Zakaria, Z., Latha, L. Y., Jothy, S. L., & Sasidharan, S. (2012). Acute toxicity impacts of *Euphorbia hirta* L extract on behavior, organs body weight index and histopathology of organs of the mice and *Artemia salina*. *Pharmacognosy Research*, 4(3), 170.
- Rocha-Filho, C. A. A., Albuquerque, L. P., Silva, L. R. S., Silva, P. C. B., Coelho, L. C. B. B., Navarro, D. M. A. F., Albuquerque, M. C. P. A., Melo, A. M. M. A., Napoleão, T. H., & Pontual, E. V. (2015). Assessment of toxicity of *Moringa oleifera* flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. *Chemosphere*, 132, 188–192.
- Rowland, C. Y., Blackman, A. J., D'Arcy, B. R., & Rintoul, G. B. (1995). Comparison of organic extractives found in leatherwood (*Eucryphia lucida*) honey and leatherwood flowers and leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3), 753–763.
- Shindano, J., & Kasase, C. (2009). *Moringa (Moringa oleifera): a source of food and nutrition, medicine and industrial products*. ACS Publications.
- Wirta, H., Abrego, N., Miller, K., Roslin, T., & Vesterinen, E. (2021). DNA traces the origin of honey by identifying plants, bacteria and fungi. *Scientific Reports*, 11(1), 1–14.
- Yelin, A., & Kuntadi. (2019).

Phytochemical identification of honey
from several regions in Java and
Sumbawa. *AIP Conference*

Proceedings, 2120(1), 80024.

Copyright (c) 2021 Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia; This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)