

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM α -AMILASE DARI ALGA (*Eucheuma spinosum*)

Nadya P.P. Mames¹⁾, Edi Suryanto¹⁾, Lidya Irma Momuat¹⁾

¹⁾Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi Manado
nadyamames9@gmail.com

ABSTRAK

Di Indonesia alga merupakan spesies yang sudah dibudidayakan dan digunakan sebagai bahan pangan sumber karagenan dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan penghambatan aktivitas enzim α -amilase dari alga yang diekstraksi dengan metode sokletasi menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat, etanol dan metanol. Ekstrak alga diuji kandungan total fenolik, aktivitas penyerapan glukosa secara *in-vitro* dan aktivitas penghambatan enzim α -amilase. Hasil analisis kandungan fenolik adalah ekstrak etil asetat (EEA) sebesar 29,75 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan yang terendah adalah ekstrak etanol (EE) sebesar 28,44 $\mu\text{g/mL}$. Tingginya kandungan fenolik pada ekstrak etil asetat menunjukkan bahwa senyawa fenol merupakan senyawa yang bersifat semi polar-polar. Hasil penyerapan glukosa secara *in vitro* pada konsentrasi 50 dan 100 mM EPE memiliki kemampuan yang paling rendah disetiap konsentrasi jika dibandingkan dengan EEA, EE dan EM. Hasil pengujian dari aktivitas penghambatan enzim α -amilase berturut-turut EPE sebesar 97,11%, EEA sebesar 89,63%, EE sebesar 89,11% dan EM sebesar 95,85%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak alga (*Eucheuma spinosum*) memiliki kemampuan untuk menyerap glukosa dan menghambat aktivitas enzim α -amilase.

Kata kunci: Antioksidan; Alga; Fenolik; Penyerapan glukosa; Enzim α -amilase

ABSTRACT

In Indonesia, algae is a species that has been cultivated and used as a food source of carrageenan and antioxidants. This study aims to determine the antioxidant activity and inhibition of α -amylase enzyme activity from algae extracted by the soxhletation method using petroleum ether, ethyl acetate, ethanol and methanol as solvents. The algae extract was tested for total phenolic content, glucose uptake activity *in vitro* and α -amylase enzyme inhibition activity. The results of the analysis of phenolic content were 29.75 $\mu\text{g/mL}$ for ethyl acetate (EEA) extract, while the lowest was 28.44 $\mu\text{g/mL}$ for ethanol extract (EE). The high phenolic content in the ethyl acetate extract indicates that the phenolic compound is a semi-polar compound. The results of absorbing glucose *in vitro* at concentrations of 50 and 100 mM EPE had the lowest ability for each concentration when compared to EEA, EE and EM. The test results for the inhibitory activity of the α -amylase enzyme were 97.11% EPE, 89.63% EEA, 89.11% EE and 95.85% EM. The results of this study indicate that extracts of algae (*Eucheuma spinosum*) have the ability to absorb glucose and inhibit the activity of the α -amylase enzyme.

Keywords Antioxidant; Phenolic; Algae; Glucose absorption; α -amylase enzyme.

PENDAHULUAN

Alga Laut (*Eucheuma spinosum*) merupakan spesies yang sudah dibudidaya dan digunakan sebagai bahan pangan sumber karagenan dan antioksidan. Senyawa antioksidan merupakan metabolit sekunder yang sangat penting bagi tubuh karena berfungsi sebagai penangkal radikal bebas. Radikal bebas sangat dihindari karena merupakan penyebab berbagai penyakit. Selain itu, senyawa metabolit sekunder memiliki perbedaan aktivitas tergantung pada jenisnya. Senyawa metabolit primer atau

sekunder dari rumput laut diduga memiliki kandungan senyawa bioaktif potensial bagi industri kesehatan (Vitor dkk., 2002).

Salah satu contoh keanekaragaman hayati di Indonesia lebih tepatnya di Sulawesi Utara yaitu tanaman alga laut *Eucheuma spinosum* (Anggadiredja dkk., 2006). Salah satu sumber daya alam yang terdapat di laut dan dapat dimanfaatkan adalah alga merah. (Wibowo, 2001). Menurut (Mubarak, 1982) komposisi kimia alga yaitu antara lain kadar air 12,90%, karbohidrat 5,12%, protein 0,13%, lemak 13,38%,

serat kasar 1,39%, abu 14,21%. Mineral (ppm) Ca 52,820; Fe 0,010; Cu 0,768. Vitamin (mg/100g): Thiamin B1 0,2; riboflavin 2,26; C 43,00; karagenan 65,75%.

E. spinosum juga memiliki beberapa aktivitas biologik yang baik bagi kesehatan, seperti antibakteri (Damongilala dkk., 2021) dan antioksidan (Komala & Husni, 2021). Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi. Antioksidan dapat menyumbangkan elektronnya kepada radikal bebas penyebab reaksi oksidasi. Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbital terluar, contohnya pada spesies oksigen reaktif (Wong, 2000). Senyawa fenolik pada tanaman padadasarnya dikelompokkan menjadi beberapa kelas seperti fenolik sederhana, asam hidroksibenzoat, asam fenilasetat, asam hidroksinamat, naptokuinon, xanton, antrakuinon, flavonoid, isoflavonoid, biflavonoid, lignin dan tanin terkondensasi (Vinha dkk., 2013). Seperti yang diketahui bahwa tanaman pala memiliki berbagai macam senyawa fenolik, maka diduga bahwa alga memiliki aktivitas antioksidan. Terdapat berbagai macam pengujian antioksidan tetapi dalam penelitian ini hanya difokuskan pada metode DPPH dan juga ABTS yang dimana kedua metode ini mudah untuk dilakukan uji antioksidan. Diabetes merupakan salah satu penyakit kronis yang paling umum terjadi pada manusia. Penyakit diabetes melitus ada 2 tipe, tipe I dan tipe II. Penyakit ini ditandai dengan kekurangan insulin yang menyebabkan peningkatan glukosa darah secara terus menerus serta perubahan metabolisme lipid dan protein, sehingga dapat menyebabkan beberapa komplikasi seperti neuropati diabetes, penyakit jantung koroner dan hipertensi (Bhutkar dan Bhise, 2012; Bhutkar dkk., 2017). Berdasarkan data dari *International Diabetes Federation (IDF)* jumlah penderita diabetes akan mengalami kenaikan dari 425 juta jiwa pada tahun 2015 menjadi 642 juta jiwa pada tahun 2040 dan Indonesia menempati urutan ke 7 penderita diabetes melitus terbanyak di dunia.

Salah satu cara untuk mengatasi kadar gula darah yang berlebihan yaitu menghambat enzim penghidrolisis karbohidrat yang disebut enzim α -amilase (Rizza, 2010). Enzim ini merupakan produk yang dihasilkan oleh kelenjar pankreas dan saliva, memecah molekul besar polisakarida menjadi molekul kecil yang dapat diserap tubuh seperti maltosa, dekstrin, dan glukosa (Ariandi, 2016). Jika aktivitas enzim α -

amilase dihambat oleh suatu inhibitor, maka enzim ini tidak dapat memecah polisakarida menjadi molekul disakarida dan monosakarida.

Berdasarkan hal tersebut, maka peneliti tertarik untuk mempelajari tentang aktivitas antioksidan dan inhibisi enzim α -amilase dari ekstrak alga *Eucheuma spinosum*. Penelitian awal dilakukan dengan metode sokletasi menggunakan 4 macam pelarut yaitu petroleum eter, etil asetat, etanol dan metanol.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel alga laut (*Eucheuma spinosum*), kertas saring, aluminium foil, akuades, petroleum eter, etil asetat, etanol, methanol, natrium karbonat (Na_2CO_3 2%), reagen folin-ciocalteu 50%, glukosa, pati 3%, enzim α -amilase, buffer fosfat pH 7, HCl 1 M, kalium iodida, asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), asam klorida, natrium karbonat, asam sulfat, 1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH), 2,2-azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6- sulfonic acid (ABTS).

Preparasi sampel

Sampel alga merah dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan kadar garam berlebih dari air laut, kemudian direndam selama satu malam dengan air sambil diganti airnya setiap 3-4 jam sekali. Selanjutnya sampel dikering-anginkan selama 14 hari, kemudian dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan blender lalu diayak menggunakan ayakan 200 mesh. Selanjutnya dihaluskan dengan alat *milling* kemudian diayak menggunakan ayakan 200 mesh.

Ekstraksi

Serbuk ditimbang sebanyak 40 g lalu disokletasi dengan 300 mL pelarut petroleum eter selama 6 jam kemudian disokletasi kembali dengan pelarut etil asetat selama 6 jam, dilakukan hal yang sama untuk pelarut etil asetat, etanol, dan metanol. Masing-masing filtrat yang diperoleh, dievaporasi pada suhu 50°C lalu dikeringkan dalam oven. Ekstrak pekat yang diperoleh, ditimbang dan disimpan selanjutnya disebut ekstrak petroleum eter (EPE), ekstrak etil asetat (EEA), ekstrak etanol (EE), dan ekstrak metanol (EM).

Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode (Jeong, 2002). Sebanyak 0,1 mL ekstrak EPE, EA, EE dan EM (1000 µg/mL) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50% dalam tabung reaksi dan kemudian campuran divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, ditambahkan 2 mL larutan Na₂CO₃ 2%, kemudian campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada λ 750 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan Aktivitas Penangkal radikal bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas 2,2-dipheny-1-pikrilhidrazil (DPPH) ditentukan dengan metode (Jeong, 2002) Sebanyak 0,5 mL masing-masing ekstrak EPE, EA, EE dan ET ditambahkan dengan 2 mL larutan 2,2-dipheny-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu kekuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansinya diukur pada panjang λ 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkal radikal bebas (APRB) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan: $(1 - A_o - A_s/A) \times 100\%$

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

Sebanyak 0,1 mL ekstrak ditambahkan 2 mL larutan stok ABTS, lalu divortex. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 6 menit dan diukur serapan dengan spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang 734 nm. Persen aktivitas antioksidan dihitung sebagai persentaseberkurangnya warna ABTS dengan menggunakan persamaan: $A_o - A_s/A_o \times 100\%$

Aktivitas Enzim α-Amilase Secara In-Vitro

Tata cara uji penghambatan enzim dilakukan dari modifikasi Buthkar dkk (2018), Pengujian dilakukan dengan cara mencampurkan 1 mL pati 3% (3 g/100 ml) + 1 mL Sampel + 1 mL enzim alfa-amilase + 1 mL buffer fosfat ditunggu selama 30 menit reaksi dihentikan dengan HCl 1 M mL kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan kalium iodida kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang 614 nm. Kemudian dihitung

(%) penghambatannya dengan menggunakan rumus : $A_o - A_s/A_o \times 100\%$

Pengaruh Ekstrak Alga terhadap Glukosa secara in-vitro

Sampel ekstrak diambil sebanyak 1,5 mL ditambahkan ke 1,25 mL larutan glukosa dari meningkatnya konsentrasi (50-100 mM). Campuran diaduk dengan baik, diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 37°C selama 6 jam, disentrifugasi selama 20 menit dan supernatan diambil sebanyak 1 mL ditambah 3 mL asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), kemudian masukkan kedalam air mendidih selama 5 menit, didinginkan lalu dibaca. Konsentrasi glukosa terikat dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Bhutar et al., 2018). Terikat glukosa= $G_6 - G_1$ berat sampel × volume larutan Keterangan: G_1 = konsentrasi glukosa dari larutan standar G_6 = konsentrasi glukosa setelah 6 jam.

Analisis Statistik

Semua eksperimen dilakukan dengan dua kali ulangan dan hasilnya dinyatakan sebagai rata-rata ± SD. Analisis ragam dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) menggunakan *software* SPSS versi 25.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Rendemen adalah presentasi antara bagian yang dapat diekstrak dari bahan mentah. Rendemen masing-masing sampel yang disokletasi dengan keempat pelarut tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen Ekstrak

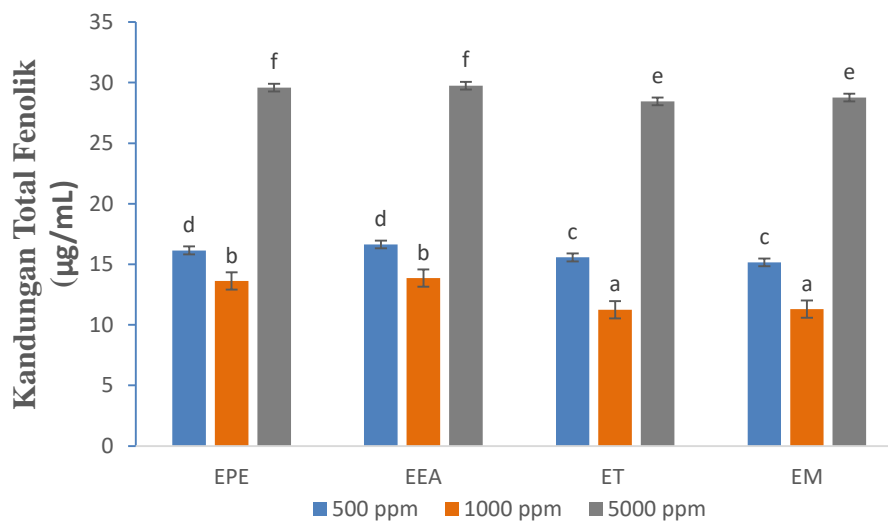
Sampel	Rendemen (%)
EPE	0,89 ± 0,33 ^b
EEA	0,22 ± 0,01 ^a
EE	3,35 ± 0,19 ^c
EM	5,56 ± 0,10 ^d

Keterangan: Ekstrak Petroleum Eter (EPE); Ekstrak Etil Asetat (EEA), Ekstrak Etanol (EE); dan Ekstrak Metanol (EM); Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 5\%$).

Berdasarkan Tabel 2, nilai rendemen serbuk alga merah yang diekstraksi menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat, etanol, dan metanol berturut-turut adalah 0,22%, 0,89%, 3,35%, dan 5,56%. Berdasarkan data yang diperoleh pada keempat jenis pelarut menghasilkan rendemen yang berbeda, hal ini disebabkan karena hasil rendemen bergantung kepada sifat kelarutan komponen bioaktifnya. Tingginya rendemen pada sampel ekstrak etanol menunjukkan bahwa pelarut etanol mampu mengekstrak lebih banyak komponen biokatif yang sifat kepolaran tinggi dari sampel serbuk alga merah. Penentuan rendemen berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut tersebut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa oleh pelarut tersebut (Ukieyanna, 2012).

Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau Gallic Acid Equivalent (GAE). Asam galat merupakan senyawa untuk mengukur kandungan senyawa fenol dalam sampel pada makanan atau minuman. Pengujian ini dilakukan karena senyawa fenolik berkontribusi langsung terhadap kapasitas antioksidan. Nilai absorbansi yang terukur menyatakan intensitas senyawa fenol yang terdapat pada sampel. Semakin besar nilai absorbansi yang dihasilkan maka kandungan senyawa fenol pada ekstrak alga merah semakin tinggi. Hasil kandungan total fenolik dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kandungan Total Fenolik

Keterangan: sama dengan Tabel 1.

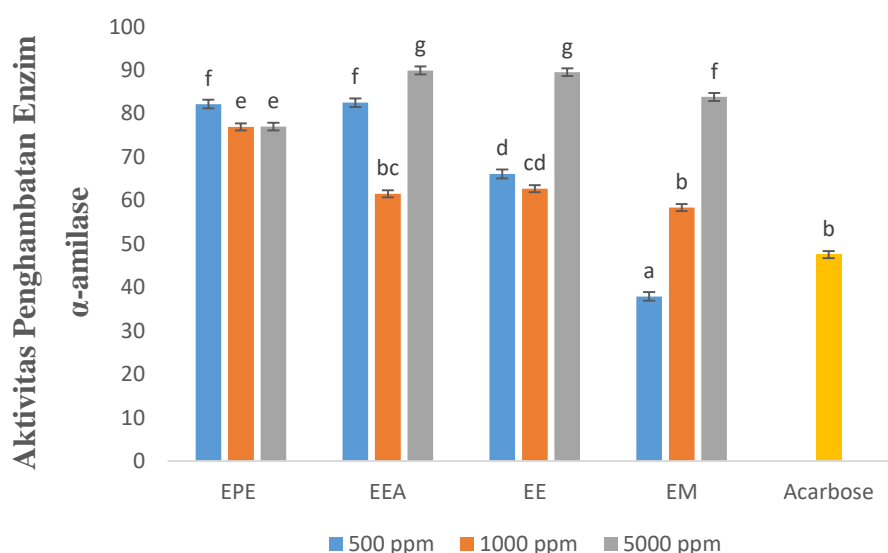
Berdasarkan data yang diperoleh pada Gambar 1, dapat diketahui bahwa hasil ekstraksi untuk keempat pelarut yang digunakan memiliki kandungan total fenolik tertinggi pada ekstrak etil asetat dan ekstrak petroleum eter (berdasarkan uji statistik yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan). Kemudian diikuti ekstrak etanol dan, ekstrak methanol. Kandungan total fenolik yang tinggi pada hasil ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan petroleum eter menunjukkan bahwa senyawa fenol merupakan

senyawa yang bersifat semi polar dan non polar. Kadar total fenolik pada penelitian ini dan penelitian yang dilakukan oleh Dareda dkk. (2020), berbeda. Adanya perbedaan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disebabkan karena perbedaan teknik ekstraksi yang digunakan, perbedaan tempat tumbuh tanaman, faktor lingkungan, serta penggunaan pelarut yang digunakan (Handayani et al., 2016).

Penentuan Aktivitas Penghambatan Enzim α -amilase

Pengujian pengaruh ekstrak terhadap aktivitas enzim α -amilase adalah uji untuk mengetahui kemampuan ekstrak untuk menghambat aktivitas enzim α -amilase dalam memecah pati. Pati dihidrolisis oleh enzim α -amilase menjadi gula gula sederhana. Semakin banyak pati yang dapat dihidrolisis dalam waktu tertentu maka semakin banyaknya glukosa dan maltosa yang dihasilkan. Glukosa dan maltosa dapat bereaksi dengan DNS (asam 3,5-Dinitrosalisilat) sehingga kadar keduanya dapat diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm.

Semakin kecil nilai absorbansi maka semakin besar persen inhibisi sampel, begitu juga sebaliknya. Pengujian aktivitas enzim α -amilase dilakukan secara *in vitro* dengan lima sampel yaitu EPE, EEA, EET dan EMT. Pati kentang pada penelitian ini berfungsi sebagai substrat dari enzim. Sedangkan DNS berfungsi sebagai reagen pewarna, dimana reagen ini berikatan dengan substrat membentuk warna kuning, sehingga absorbansinya dibaca pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 540 nm. Acarbose digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian ini.



Gambar 2. Aktivitas penghambatan Enzim α -amilase

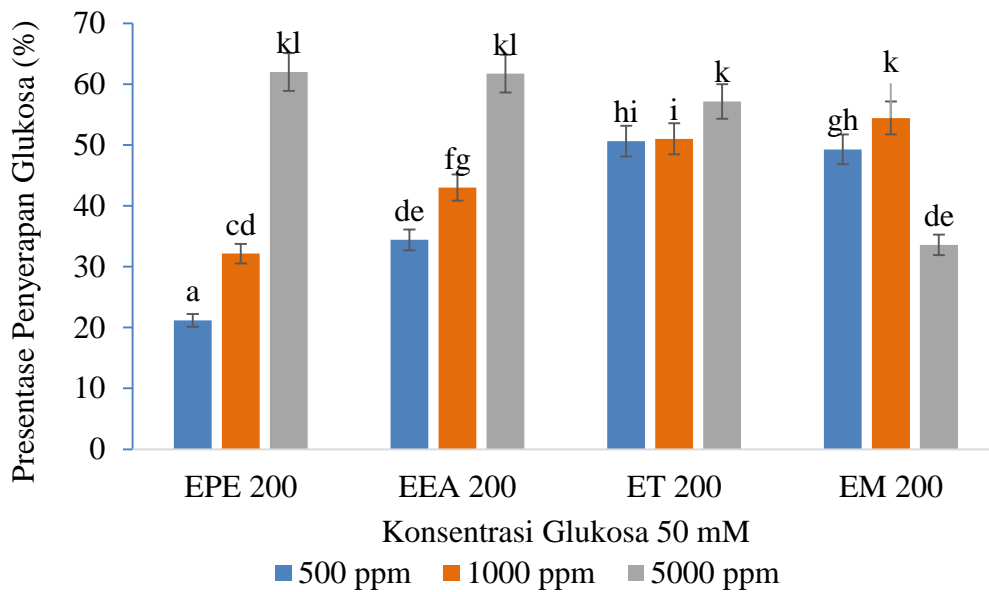
Keterangan: sama dengan Tabel 1.

Berdasarkan penelitian aktivitas penghambatan amilase, keempat ekstrak sampel dapat menghambat kerja enzim. Hasil reaksinya berupa glukosa yang kadarnya lebih sedikit dibandingkan dengan larutan kontrol. Hal ini dikarenakan sampel tersebut mengandung senyawa metabolit yang diduga memiliki khasiat sebagai obat antidiabetes yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik dan saponin. Persentase penghambatan acarbose dan kelima ekstrak terhadap enzim α -amilase disajikan pada Gambar 3. Semua sampel yang diuji menunjukkan kemampuan untuk menghambat enzim α -amilase dan sampel yang paling unggul adalah ekstrak petroleum eter, ekstrak metanol, dan ekstrak etanol yang berdasarkan uji statistik tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol yang digunakan. Keempat ekstrak sampel

mempunyai kemampuan untuk menghambat enzim α -amilase karena mengandung senyawa berupa alkaloid, flavonoid dan fenolik yang menurut penelitian Santi dkk. (2008) merupakan senyawa aktif yang berpengaruh dalam menghambat aktivitas enzim amilase.

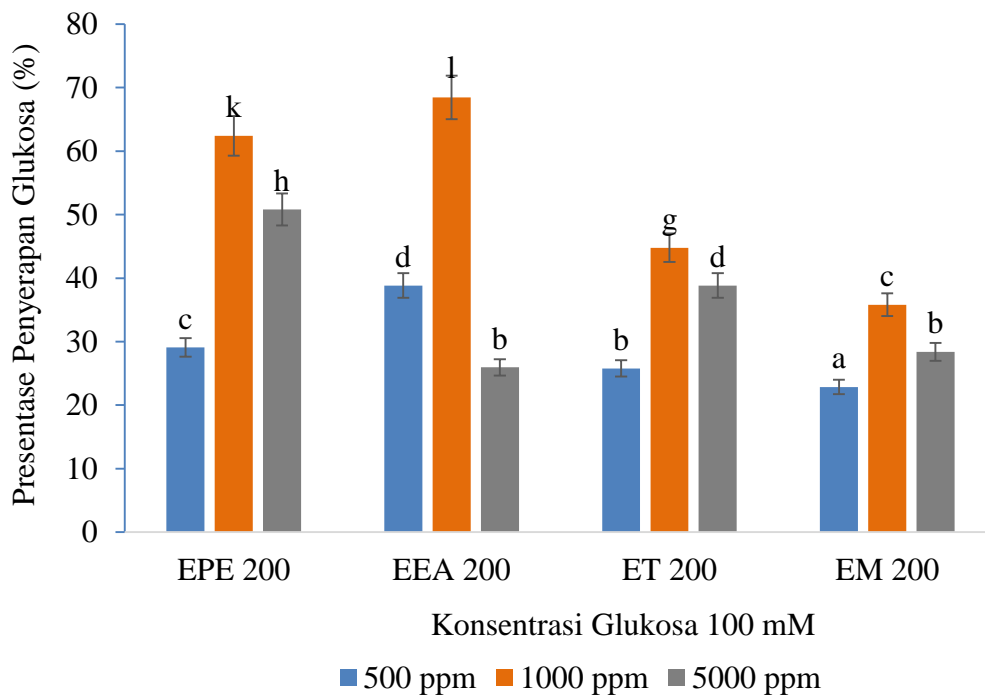
Penyerapan Glukosa secara *In vitro*

Larutan DNS yang mulanya berwarna kuning saat bereaksi dengan gula reduksi membentuk senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna kuning kecoklatan yang kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 540 nm. Dimana asam 3-amino-5-nitrosalisilat merupakan senyawa yang mampu menyerap dengan kuat radiasi gelombang elektromagnetik pada 540 nm. Gambar 3.



Gambar 3. Aktivitas penyerapan glukosa

Keterangan: sama dengan Tabel 1.



Gambar 4. Aktivitas penyerapan glukosa

Keterangan: sama dengan Tabel 1.

Berdasarkan data yang diperoleh pada Gambar 2, setiap ekstrak memiliki kemampuan untuk mengikat glukosa baik pada konsentrasi 50 mM

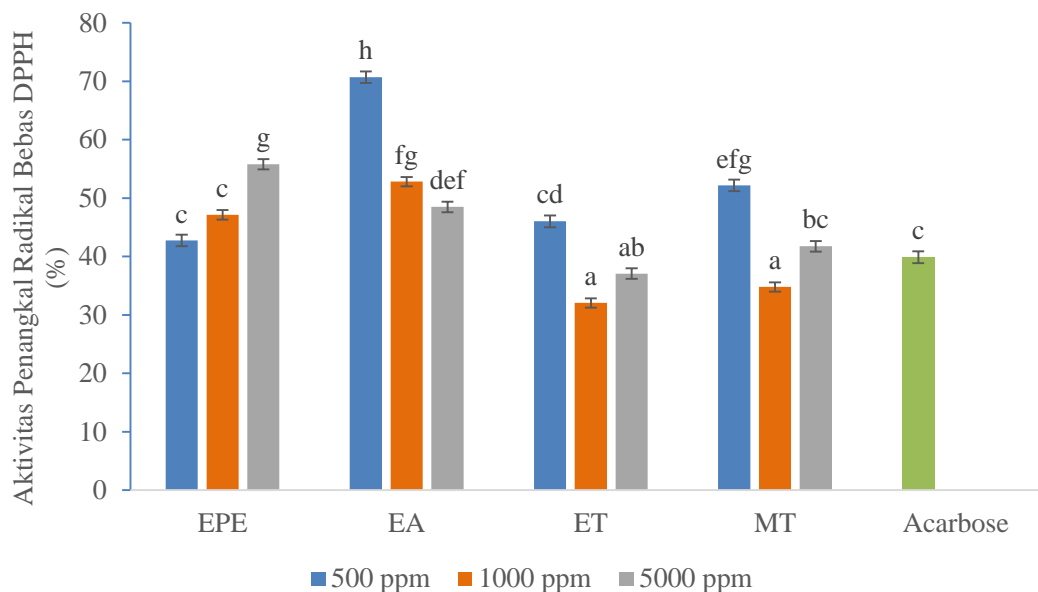
dan 100 mM. Sampel yang paling unggul untuk setiap konsentrasi pada setiap sampel adalah ekstrak etanol, ekstrak metanol, dan ekstrak

etil asetat (signifikan) serta ekstrak petroleum eter adalah yang terendah.

Aktivitas Penangkal Radikal Bebas (DPPH)

Aktivitas penangkal radikal bebas

ditentukan dengan menggunakan metode serapan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Hasil pengujian kemampuan penangkal radikal bebas DPPH dari alga merah dengan konsentrasi mL dapat ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Aktivitas penangkal radikal bebas (DPPH)

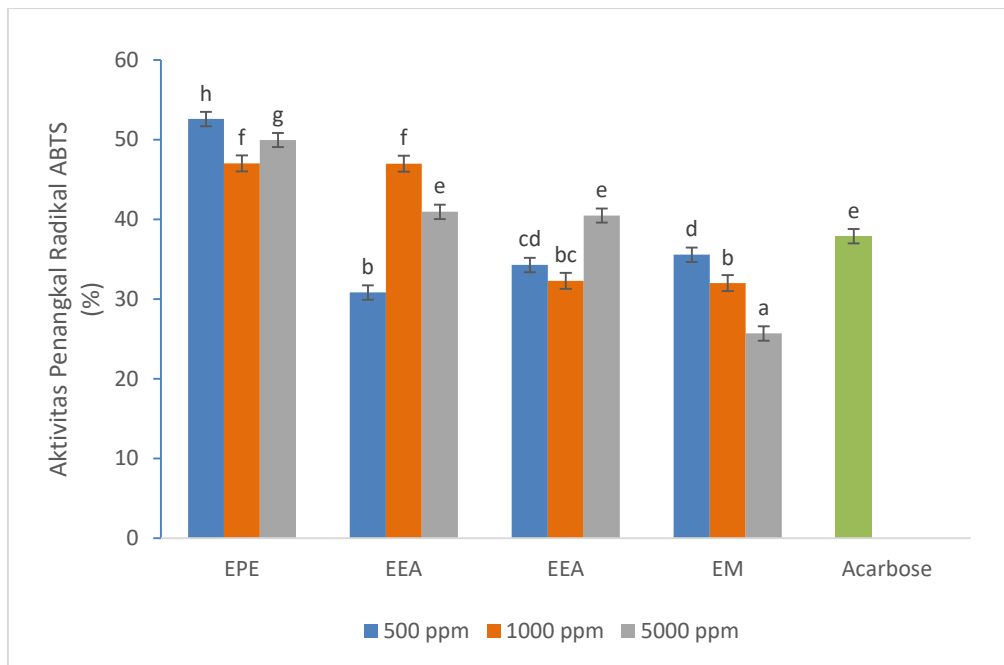
Keterangan: sama dengan Tabel 1.

Menurut Widyawati dkk. (2010) menyatakan bahwa perbedaan aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti perbedaan kemampuan dalam menstansfer atom hidrogen ke radikal bebas, struktur kimia senyawa antioksidan, dan pH campuran reaksi. Diduga tingginya kandungan total fenolik berdampak pada aktivitas penangkal radikal bebas yang tinggi pula. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa adanya hubungan antara kandungan total

fenolik dengan kapasitas antioksidan (Momuat dkk., 2015; Suryanto & Momuat, 2017; Padmawati, 2020).

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

Hasil pengujian kemampuan penentuan aktivitas antioksidan dengan metode ABTS dari alga merah dapat ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Aktivitas penangkal ABTS

Keterangan: sama dengan Tabel 1.

Prinsip pengujian metode ABTS untuk mengukur peredaman antioksidan terhadap radikal bebas. Hasil analisis metode ABTS berdasarkan hilangnya warna biru atau hijau akibat tereduksinya ABTS oleh antioksidan yang terdapat pada sampel yang ditandai dengan perubahan intensitas warna biru atau hijau menjadi redup.

KESIMPULAN

Kempat sampel mengandung senyawa fenolik., hasil pengujian kandungan fenolik dari masing- masing ekstrak menunjukkan bahwa yang tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat dan aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa yang tertinggi terdapat pada ekstrak petroleum eter. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak petroleum eter memiliki kemampuan untuk menyerap glukosa secara *in vitro* paling rendah. Sedangkan, ekstrak etil asetat memiliki kemampuan paling rendah untuk menghambat aktivitas enzim α -amilase.

DAFTAR PUSTAKA

Anggadiredja, J. T., Zatrika, A., Purwoto, H., & Istini, S. 2006. Rumput Laut: Pembudidayaan, Pengolahan, & Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial (2nd ed.).

Penebar Swadaya.

Ariandi, 2016. Pengenalan Enzim Amilase (Alpha-amylase) dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa. *Jurnal Dinamika*. **7(1)**: 74–82.

Aslan, L. M. 1998. Budidaya Rumput LAut (1st ed.). Kanisius.

Bhutkar, M.A., Bhinge, S.D., Randive, D.S. & Wadkar, G.H. 2017. Hypoglycemic Effects of *Berberis aristata* and *Tamarindus indica* Extracts in Vitro. *Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University*. **55(1)**: 91–94.

Damongilala, L.J. 2021. *Kandungan Gizi Pangan Ikani*. Cv. Patra Media Grafindo. Bandung.

Fitriani, A. dan Purnama T. 2019. Perbandingan Hasil Pemeriksaan Glukosa Darah Pada Sampel Whole Blood, Plasma EDTA (*Ethylen Diamin TetraAcid*) dan Serum pada Pasien Diabetes Mellitus di Bludrumah Sakit Konawe Selatan. *Jurnal MediLab Mandala Waluya Kendari*. **13(1)**: 21–27.

Izzati, M. 2007. Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu. *Jurnal BIOMA*. Semarang: Universitas. **9 (2)**: 62–67.

Gulcin, I., Huyut, Z., Elmastas, M., AboulEnein,

- H.Y. (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arab Journal Chemistry*. **2(3)**: 43–53.
- Hardoko, Siratantri, T., Eveline, Yogabuana, M. & Olivia, S. 2014. An in Vitro Study of Antidiabetic Activity of Sargassum Duplicatum and Turbinaria Decurrens Seaweed. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. **3(2)**: 13-18.
- Khazanda, K.A., Wazir, S.T.G., Samina, K., Shahzadi, S. 2007. Antifungal Activity, Elemental Analysis And Determination Of Total Protein Of Seaweed, Solieria Robusta (Greville) Kylin From The Coast Of Karachi. National Center of Excellence for Analytical Chemistry. Pakistan: University of Sindh, Jamshoro-76080.
- Khirzin, M.B., Hilmi, M., Prastujati, A.U., Mawardi, N., Rahayu, R. 2020. Karakteristik Hidrolisat Gelatin Tulang Itik Dengan Enzim Tripsin Sebagai Penghambat Alfa Amilase (α -amylase Inhibitor). *Jurnal Ilmiah INOVASI*. **20(3)**: 55-60.
- Lestario, N.L., Sugiarto, S., Timotius, K.H. 2008. Aktivitas antioksidan dan Kadar Fenolik Total dari Ganggang Merah (*Gracilaria Verucosa*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana*.
- Longo, L. 2011. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 18th Edition. McGraw-Hill Medical Publishing Division. New York.
- Ozben, T. 2007. Oxidative stress and apoptosis: Impact on cancer therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **56(2)**: 181–196.
- Rizza, R.A. 2010. Pathogenesis of fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes: Implications for Therapy. *Diabetes Journal*; **59(1)**: 2697-2707
- Sari, B.L., Susanti, N., Sutanto. 2015. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Alga Merah *Euclima spinosum*. **2(1)**: 59-67
- Sayuti, K. dan Yenrina, R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas Press University, Padang. Toto, S. dan Majid, A. 2013. *Asuhan Keperawatan Pada Klien dengan Gangguan Sistem Perkemihan*. CV.Trans Info Media. Jakarta.
- Vitor J.M., Carvalho, A.F.F.U., Freitas, S.M. & Melo, V.M.M. 2002. Antibacterial Activity of Extracts of Six Macroalgae From The Northeastern Brazilian Coast.. Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciencias Biologicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte; Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceara, Fortaleza, CE, Brasil. *Brazilian Journal of Microbiology*, **33**: 311-313.
- Wahyuningsih, R. 2013. *Penatalaksanaan Diet Pada Pasien*. Graha Ilmu. Yogyakarta. Warsidah, Fadly, D., & Amran, A. 2021. Socialization of the Utilization of Seaweed and Diversification of Its Processes as Functional Food in an Effort to Increase the Immune System during the COVID-19 Pandemic. Mattawang: *Jurnal Pengabdian Masyarakat*. **2(2)**: 92–100.
- Wibowo, S.T. 2001. Potensi Jenis-Jenis Rumput Laut dari Pantai Sayang Heulang Pameungpeuk Garut Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. Jurnal Biologi. Bogor: Jurusan biologi, Institut Pertanian Bogor.
- Wong. (2000). Buku Ajar Keperawatan Pediatrik Volume 1,2. Jakarta: EG
- Yan, X., Nagata, T., and Xiao, F. 1998. Antioxidative Activities in Some Common Seaweeds. *Journal of Plant Foods for Human Nutrition Institute of Oceanology*. Japan: Academic Publisher. **52(6)**: 253–262.
- Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C., Zhou, Z. 2016. Antioxidant Activity of Citrus Fruits. *Food Chemistry*. **19(6)**: 885-896.
- Zubia, M., Robledo, D., Freile-Pelegrin, Y. (2007). Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, **19**: 49–458.