

**ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF EXTRACTS AND FRACTIONS OF *Callyspongia aerizusa* OBTAINED FROM MANADO TUA ISLAND**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI DARI *Callyspongia aerizusa* YANG DIPEROLEH DARI PULAU MANADO TUA**

Melisa O. Makalunsenge<sup>1)\*</sup>, Adithya Yudistira<sup>2)</sup>, Erladys M. Rumondor<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi FMIPA UNSRAT, 95115

\*melisaoktafiani13@gmail.com

**ABSTRACT**

*Callyspongia aerizusa* is a family of sponges that have compounds with high activity and a porous body surface structure, so they are included in the phylum Porifera. Antioxidants are substances the body needs to neutralize free radicals and prevent the damage caused by free radicals to normal cells, proteins, and fats. This study aims to determine the antioxidant activity of the extract and fraction of *Callyspongia aerizusa* obtained from the island of Manado Tua. Samples of *Callyspongia aerizusa* were extracted with ethanol as a solvent and fractionated using three solvents, namely methanol, n-hexane, and chloroform. Antioxidant activity testing was carried out using the DPPH method (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil*) and measured using UV-Vis Spectrophotometry at 517 nm. The results of testing the antioxidant activity of the extract and *Callyspongia aerizusa* fraction had antioxidant activity at a concentration of 100 ppm ethanol extract with an average value of 64.8%, the concentration of n-hexane fraction 100 ppm with an average value of 66.8%, chloroform concentration of 100 ppm with the average value is 60.4%, and the concentration of the methanol fraction is 100 ppm with an average value of 67.3%. The highest antioxidant content was found in the methanol fraction, which reached 67.3%.

**Keywords:** *Callyspongia aerizusa*, Antioxidant, Spectrophotometry

**ABSTRAK**

*Callyspongia aerizusa* ialah salah satu famili spons yang memiliki senyawa dengan aktivitas tinggi dan memiliki struktur permukaan tubuh yang berpori-pori sehingga dimasukkan kedalam filum porifera. Antioksidan adalah substansi yang diperlukan oleh tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada ekstrak dan fraksi *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari pulau Manado Tua. Sampel *Callyspongia aerizusa* diekstraksi dengan etanol sebagai pelarut dan difraksinasi dengan menggunakan tiga pelarut yaitu methanol, n-heksan, dan kloroform. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil*) dan diukur menggunakan alat Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi *Callyspongia aerizusa* memiliki aktivitas antioksidan pada konsentrasi ekstrak etanol 100 ppm dengan nilai rata-rata 64,8%, konsentrasi fraksi n-heksan 100 ppm dengan nilai rata-rata 66,8%, konsentrasi kloroform 100 ppm dengan nilai rata-rata 60,4%, dan konsentrasi fraksi methanol 100 ppm dengan nilai rata-rata 67,3%. Kadar antioksidan tertinggi terdapat pada fraksi methanol yaitu mencapai 67,3%.

**Kata kunci:** *Callyspongia aerizusa*, Antioksidan, Spektrofotometri

## PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara kepulauan terbesar di dunia, memiliki wilayah perairan sangat luas, dua pertiga merupakan wilayah laut, dan didalamnya terhadap sumber daya alam hayati laut yang besar, sehingga bukan tanpa alasan jika populasi dan jumlah spesies spons di Indonesia cukup bervariasi. Salah satu sumber daya alam yang belum banyak dieksplorasi dan pemanfaatannya dalam berbagai bidang kehidupan manusia seperti sumber bahan pangan, sumber bahan utama atau bahan tambahan obat material pendukung dalam perbaikan lingkungan dan penanganan pencemaran adalah pada ekosistem terumbu karang. Ekosistem terumbu karang merupakan bagian dari ekosistem laut yang menjadi sumber kehidupan bagi beraneka ragam biota laut (Marzuki, 2018).

Spons laut merupakan salah satu sumber molekul yang tidak biasa ditemukan di bebatuan jauh sebelum ledakan Kambrium. Bukti paleontologis dan genetik merupakan bukti kuat tentang hal ini, berdasarkan data fosil hasil dieksplorasi diyakini genetik dari molekul spons. *Callyspongia aerizusa* ialah salah satu famili spons yang memiliki senyawa dengan aktivitas tinggi dan memiliki struktur permukaan tubuh yang berpori-pori sehingga dimasukkan kedalam filum porifera (Sari dkk., 2014). *Callyspongia aerizusa* menghasilkan metabolit sekunder berupa steroid, alkaloid, flavonoid dan terpenoid yang kedepannya dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat (Manggala dkk., 2015).

Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron (electron donors) dan secara biologis antioksidan merupakan senyawa yang mampu mengatasi dampak negatif oksidan dalam tubuh seperti kerusakan elemen vital sel tubuh. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang memperlambat atau mencegah proses oksidasi dengan cara menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas (Erlidawati dkk., 2018).

Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi spons *Callyspongia aerizusa* yang diambil dari perairan Pulau Manado Tua dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

## METODOLOGI PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2021-Maret 2022 di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi.

## Alat dan Bahan

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu masker, sarung tangan, talenan, gunting, pisau, scuba diving, kertas, label, spidol permanen, botol, zipper lock bag, cool box, aluminium foil, Erlenmeyer, timbangan analitik, rotary evaporator, gelas ukur, gelas kimia, kertas saring, autoklaf, pinset, laminary air flow, pipet tetes, lemari pendingin, inkubator, vortex

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spons *Callyspongia aerizusa*, etanol 95%, n-heksana, kloroform, methanol, dan DPPH.

### Prosedur Kerja Pengambilan Sampel

Sampel *Callyspongia aerizusa* diambil dari perairan Pulau Manado Tua dengan menggunakan alat bantu (Scuba diving). Sebelum sampel diambil, sampel difoto menggunakan kamera bawah laut lalu dimasukkan ke dalam ziplock kemudian diberi label dan disimpan di dalam cool box. Setelah itu sampel langsung dibawa ke Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi.

### Determinasi Sampel

Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi, untuk mengetahui sampel yang diambil dari pulau Manado Tua adalah sampel yang sesuai untuk digunakan dalam penelitian yaitu spons *Callyspongia aerizusa*.

### Preparasi Sampel

Sampel *Callyspongia aerizusa* yang telah diambil kemudian dicuci dan dipotong kecil-kecil menggunakan pisau atau gunting. Setelah itu sebanyak 356 gr sampel dimasukkan ke dalam botol lalu sampel dimaserasi dengan etanol 95% sebanyak 200 mL kemudian tambahkan lagi etanol sampai sampel terendam secara keseluruhan.

### Ekstraksi

Sampel *Callyspongia aerizusa* sebanyak 356 gr dimaserasi dengan etanol 95% dengan 3 kali pengulangan selama 24 jam. Setelah itu sampel disaring untuk menghasilkan filtrat. Hasil yang didapatkan setelah disaring kemudian diupkan menggunakan alat evaporator sehingga didapatkan

hasil ekstrak kasar dari sampel *Callyspongia aerizusa*.

### Fraksinasi

Dimasukkan sebanyak 5 gr ekstrak etanol Spons *Callyspongia aerizusa* ke dalam Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan metanol 80% sebanyak 100 mL. Setelah sampel larut, sampel dimasukkan kedalam corong pisah lalu ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 100 mL setelah itu dikocok berulang kali sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk lapisan MeOH dan heksan. Masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan heksan selanjutnya dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga kering, lalu ditimbang dan ini disebut fraksi heksan. Selanjutnya lapisan MeOH ditambahkan dengan aquades sebanyak 100 mL dipartisi dengan pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1 v/v, dikocok dalam corong pisah hingga homogen. Dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu lapisan MeOH dan kloroform. Masing-masing lapisan ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan kloroform dalam wadah selanjutnya dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga kering lalu ditimbang. Ini disebut fraksi kloroform. Lapisan MeOH yang ditampung pada wadah yang lain kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga kering lalu ditimbang berat sampel. Ini disebut fraksi MeOH. Ketiga fraksi tersebut digunakan dalam pengujian antioksidan.

### Pembuatan Larutan Ekstrak *Callyspongia aerizusa*

Larutan sampel dibuat dengan konsentrasi 100 ppm dengan menimbang 10 mg ekstrak etanol Spons dilarutkan dalam 100 ml etanol 95% dan dikocok hingga homogen. perlakuan yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan, kloroform dan metanol.

### Pembuatan Larutan DPPH

DPPH sebanyak 5 mg ditimbang dan dilarutkan di dalam 100 mL etanol 95% dalam labu ukur. Kemudian didiamkan selama 30 menit.

### Pembuatan Larutan Kontrol DPPH

Pembuatan larutan kontrol DPPH dengan melarutkan 2 ml etanol 95% dengan 2 ml larutan DPPH 50 ppm dan kemudian dikocok. Larutan kontrol diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

### Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pembuatan larutan uji sampel dibuat dengan dimasukkan 2 mL larutan DPPH kedalam masing-masing larutan sampel kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan yaitu 37°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH. Semua sampel dilakukan 3 kali pengulangan dan kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas penangkapan radikal bebas (persen inhibisi) dihitung sebagai persentase DPPH yang tereduksi dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari percobaan diatas sebanyak 356 gr spons *Callyspongia aerizusa* diekstraksi menggunakan pelarut etanol 95% dengan metode maserasi sebanyak tiga kali, kemudian dievaporasi sampai menghasilkan ekstrak kasar sebanyak 10 gr. Setelah itu diambil sebanyak 5 gr kemudian difraksinasi menggunakan tiga pelarut yaitu metanol, n-heksan, dan kloroform. Hasil randemen ekstrak dan fraksi *Callyspongia aerizusa* dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Randemen ekstrak dan fraksi *Callyspongia aerizusa*

| N o | Sampel           | Massa ekstra k (g) | Rendemen (%) | Warna        |
|-----|------------------|--------------------|--------------|--------------|
| 1   | Ekstrak etanol   | 10                 | 2,81         | Coklat pekat |
| 2   | Fraksi n-heksan  | 0,022              | 0,44         | Putih keruh  |
| 3   | Fraksi kloroform | 0,05               | 1            | Putih keruh  |
| 4   | Fraksi methanol  | 3                  | 60           | Kuning       |

Setelah itu hasil ekstrak dan fraksi diuji untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan. Pengujian dilakukan menggunakan metode DPPH dengan alat spektrofotometri UV-Vis diukur pada panjang gelombang 517 nm. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi *Callyspongia aerizusa*.

| Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi | Pengulangan |       |       | Rata-rata |
|--------------------------------|-------------|-------|-------|-----------|
|                                | I           | II    | III   |           |
| 100 ppm Ekstrak Etanol         | 58,3%       | 69,5% | 66,8% | 64,8%     |
| 100 ppm Fraksi n-Heksan        | 64,4%       | 66,5% | 69,6% | 66,8%     |
| 100 ppm Fraksi Kloroform       | 62,1%       | 61,2% | 57,9% | 60,4%     |
| 100 ppm Fraksi Metanol         | 66,1%       | 69,9% | 66%   | 67,3%     |

Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu Spons *Callyspongia aerizusa* yang diperoleh dari Pulau Manado Tua. Sampel dibawah ke Laboratorium Farmasi Lanjut Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Setelah itu sampel dipreparasi dengan cara dicuci dan dipotong kecil-kecil menggunakan pisau atau gunting. Hal ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga dalam proses ekstraksi didapatkan senyawa yang diinginkan secara maksimal (Amanah, 2019). Dihasilkan sampel sebanyak 356 g kemudian dimasukkan ke dalam botol dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 95%. Alasan memilih metode maserasi karena metode ekstraksi dengan cara dingin seperti maserasi mempunyai banyak keuntungan dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya, diantaranya prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan sehingga dapat menjaga bahan alam yang tidak tahan panas. Disamping itu ekstraksi dingin juga memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut pada suhu kamar (Puspitasari dan Lean, 2017). Digunakan pelarut etanol pada proses ekstraksi karena etanol bersifat polar, universal, dan mudah didapat (Trifani, 2012). Maserasi dilakukan sebanyak 3 x 24 jam dan setiap 24 jam ekstrak disaring dan dimaserasi lagi menggunakan pelarut yang baru. Hal ini disebut remaserasi yang bertujuan untuk menarik kandungan senyawa yang masih tertinggal pada saat maserasi pertama. Setelah itu filtrat yang diperoleh dievaporasi menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C karena pada suhu ini tidak dapat merusak senyawa-senyawa aktif pada sampel (Woran dkk, 2021). Tujuan dilakukan penguapan adalah untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga diperoleh ekstrak kental (Selfiana, 2019).

Setelah itu ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 10 g selanjutnya dilakukan proses

fraksinasi. Pada proses fraksinasi digunakan metode fraksinasi cair-cair. Metode ini merupakan pemisahan dengan menggunakan pelarut yang tidak saling bercampur sehingga senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, senyawa yang bersifat non polar akan larut ke dalam pelarut non polar, dan senyawa yang bersifat semi polar akan larut ke dalam pelarut semi polar (Woran dkk, 2021). Pada proses fraksinasi menggunakan tiga pelarut yaitu n-heksan sebagai pelarut non polar, kloroform sebagai pelarut semi polar, dan methanol sebagai pelarut polar. Fraksinasi dengan cair-cair dilakukan dengan pengocokan. Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antar dua fraksi (Pratiwi dkk, 2016). Hasil randomen ekstrak dan fraksi yang dihasilkan dapat dilihat pada tabel 1. Berdasarkan hasil fraksinasi menunjukkan bahwa randomen tertinggi ditunjukkan pada fraksi methanol yaitu 60% dibandingkan dengan n-heksan dan kloroform. Hal ini sesuai dengan penelitian Meldha (2021) yang menyatakan bahwa tingginya nilai randomen pada methanol menunjukkan bahwa terdapat banyak komponen senyawa yang bersifat polar dalam sampel *Callyspongia aerizusa*. Perbedaan nilai randomen ini disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang berbeda akan melarutkan senyawa-senyawa yang berbeda tergantung tingkat kepolarannya. Oleh sebab itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan tergantung jenis pelarutnya (Mujipradhana dkk, 2018).

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui aktivitas dari penangkal radikal bebas. Antioksidan di definisikan sebagai senyawa yang mampu melindungi sel dari bahaya radikal bebas oksigen reaktif. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga apabila terbentuk banyak radikal maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Yenrina dan Sayuti, 2015). Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah *1,1-difenil-2-pikrihidrazil* (DPPH) (Tristantini, 2016). Ekstrak dan fraksi yang diperoleh dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Metode ini dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk pengujian aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Ridho, A., 2013). Alat yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan yaitu Spektrofotometer UV-Vis. Pada uji ini pengukuran nilai absorbansi DPPH diukur pada panjang

gelombang antara 400-600 nm. Hasil absorbansi yang didapat yaitu 517 nm sebagai panjang gelombang maksimum untuk DPPH. Sebelum larutan sampel diuji, sampel diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 37°C di tempat gelap selama 30 menit hal ini dilakukan untuk menghindari kontaminasi dan pengujian aktivitas antioksidan diinkubasi pada suhu 37°C karena pada suhu ini reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa metabolit sekunder berlangsung lebih optimal (Aji, 2014). Adanya aktivitas antioksidan dapat dilihat dari perubahan warnanya dari ungu pekat menjadi kuning pucat. Hal ini sesuai dengan penelitian Denny (2021) bahwa tingkat perubahan warna yang terjadi mengindikasikan potensi senyawa antioksidan dalam kemampuannya mendonorkan atom hidrogen.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi *Callispongia aerizusa* dapat dilihat pada tabel 2. Pada hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan nilai persen inhibisi pada ekstrak dan fraksi spons *Callispongia aerizusa* memiliki aktivitas antioksidan pada konsentrasi ekstrak etanol 100 ppm dengan nilai rata-rata 64,8%, konsentrasi fraksi n-heksan 100 ppm dengan nilai rata-rata 66,8%, konsentrasi kloroform 100 ppm dengan nilai rata-rata 60,4%, dan konsentrasi fraksi methanol 100 ppm dengan nilai rata-rata 67,3%. Nilai persen inhibisi tertinggi terlihat pada konsentrasi fraksi methanol 100 ppm yang mencapai 67,3%. Hal ini didukung oleh penelitian Lisnawati (2014) yang menunjukkan bahwa tingkat kepolaran pelarut sangat berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yang diperoleh. Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut polar (85,95%), semi polar (74,49%), dan pelarut non polar (51,82%). Fraksi methanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan n-heksan dan kloroform, hal ini diduga karena adanya kandungan senyawa aktif dari golongan senyawa antioksidan yang bersifat polar lebih banyak dibandingkan yang bersifat non polar dalam spons *Callispongia aerizusa*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi *Callispongia aerizusa* yang diperoleh dari Pulau Manado Tua memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan tertinggi terlihat pada konsentrasi fraksi methanol 100 ppm dengan nilai rata-rata 67,3%.

## SARAN

Sebaiknya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung dalam Spons *Callispongia aerizusa* dan pengujian lain seperti Antimikroba dan Anticancer.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aji, R, M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Daging Lidah Buaya (*Aloe vera*) Menggunakan Metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazil*), Skripsi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Abdullah, S. S., Antasionasti, I., Rundengan, G., Abdullah, R. P. I. (2022). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji Dan Daging Buah Pala (*Myristica fragrans*) Dengan Metode DPPH. Chemistry Progress, **15(2)**, 70–75
- Amanah, W. 2019. Biokonversi Antosianin Menjadi Antosianidin dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Kubis Ungu (*Brassica oleracea var. capitata L.*) Melalui Fermentasi Ragi Tempe (*Rhizopus oligosporus*). Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta
- Antasionasti I, Jayanto I, Abdullah S S, and Siampa J P. Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) Dengan Kitosan Sodium Tripolifosfat Sebagai Kandidat Antioksidan. Chemistry Progress, 2020, **13(2)**: 77-85.
- Denny, R., Adithya, Y., Deby, A, M. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Stylissa carteri* dari Pulau Mentehage Minahasa Utara. Pharmacon – Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Volume 11 Nomor 1 Februari 2022
- Dwi Puspitasari., Anita., Lean S. P., 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). Jurnal Ilmiah Cendekia eksakta **1(2)**1-8
- Erlidawati, Safrida, Mukhlis. 2018. Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes. University Press Darussalam. Banda Aceh

Makassar: Universitas Hasanuddin

- Lisnawati. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*) dari Berbagai Tingkat Kepolaran Pelarut, [Skripsi] Palu: FMIPA Kimia. Universitas Tadulako.
- Manggala, F. P., J. Posangi, M.P. Wowor, Bara R. 2015. Uji Efek Antibakteri Jamur Endosimbion Spons Laut terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Ebm. 3(1): 277
- Meldha., Defny, S. W., Karlah, L. R. M. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Spons *Callyspongia aerizusa* dari Perairan Pulau Mantehage Manado. *Pharmacoon*. 10(3) : 955
- Membri, D.K., Yudistira, A., Sumantri, S. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Liosina paradoxa* Yang Dikoleksi Dari Pulau Mantehage. *Pharmacoon*, **10(2)**, 775–777
- Mujihradana V.N., D. S. Wewenggang., E. Suryanto. 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak *Ascidian Herdmania momus* pada Mikroba Patogen Manusia. *Pharmacoon*. 7(3): 338-347
- Pratiwi, L., Achmad, F., Ronny, M., Suwidjiyo, P. 2016. Ekstrak etanol, Ekstrak etil asetat, Fraksi etil asetat, dan Fraksi n-heksan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 2016, 01, 71 – 82
- Ridho, E. A., (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) Dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). Naskah Publikasi. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Sari, N.I., Ahmad A., Dali S. 2014. Isolasi dan karakterisasi protein bioaktif dari spons *Callyspongia sp.* sebagai zat antioksidan.
- Selfiana, A. 2019. Identifikasi Senyawa Aktif Antrakuinon Fraksi Etil Asetat Kayu Songga (*Strychnos ligustrida*) Sebagai Anti Malaria Melalui Uji Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Heme. Universitas Islam Indonesia. Yogyakarta
- Soleman, P., Adithya, Y., Meilani, J. M. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Callyspongia aerizusa* dari Pulau Mantehage Kabupaten Minahasa Utara. *Pharmacoon*. 10(3) : 964
- Trifani. 2012. Ekstraksi Pelarut Cair-Cair. Universitas Indonesia. Depok
- Tristantini, D., Alifah, I., Bhayangkara, T, P., Jason, G, J. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi L.*). Program Studi Teknik Kimia, FTI, UPN "Veteran". Yogyakarta
- Woran, F., Defny, W., Meilani, J. 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Ascidian (*Lissoclinum badium*) dari Perairan Pulau Mentehage. *Pharmacoon – Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Sam Ratulangi, Volume 10 Nomor 2 Mei 2021*
- Yenrina, R., Sayuti, K. 2015. Antioksidan Alami dan Sintetik. Padang. University Press.