

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAN FRAKSI SPONS *STYLISSA CARTERI* YANG DIPEROLEH DARI PULAU MANADO TUA

Fenezia Yosevina Lumempow^{1*}, Adithya Yudistira²⁾, Elly Juliana Suoth³⁾

Program Studi Farmasi, FMIPA UNSRAT, Manado

*fenezialumempow105@student.unsrat.ac.id

ABSTRACT

The human's body can produce antioxidants from it's cell metabolism, but with the increasing number of free radicals, the body needs to be supported by antioxidant intake. *Stylissa carteri* sponge can produce secondary metabolites from metabolic processes in the cells in the body, because the extract from the sponge is believed to have bioactive compounds that have cytotoxin, anti-tumor, antiviral, and anti-inflammatory properties. *Stylissa carteri* sponge is found under the sea and this sponge contains active compounds whose percentage of activity is greater than the compounds produced by land plants. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of the extract and fraction of sea sponge (*Stylissa carteri*). This antioxidant test was carried out using the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) which was measured using a UV-Vis Spectrophotometer with 100 ppm concentration. The results showed that the *Stylissa carteri* sponge had high antioxidant activity in each test, the highest results were found in the ethanol extract with an average inhibition value of 95,7%.

Keywords: *Stylissa carteri* sponge, antioxidants, DPPH

ABSTRAK

Tubuh dapat menghasilkan antioksidan dari metabolisme sel tubuh namun dengan meningkatnya jumlah radikal bebas, tubuh perlu didukung oleh asupan antioksidan. Spons *Stylissa carteri* dapat menghasilkan metabolit sekunder dari proses metabolisme dalam sel yang ada pada tubuhnya, karena ekstrak dari spons dipercaya memiliki senyawa bioaktif yang mempunyai sifat sitotoksin, anti tumor, antivirus, dan anti inflamasi. Spons *Stylissa carteri* terdapat di bawah laut dan spons ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa- senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak dan fraksi spons laut *Stylissa carteri*. Pengujian antioksidan ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) yang diukur menggunakan alat uji Spektrofotometer UV-Vis dengan konsentrasi 100 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa spons *Stylissa carteri* memiliki aktivitas senyawa antioksidan yang tinggi disetiap pengujian, terlihat hasil tertinggi terdapat pada ekstrak kasar dengan rata-rata nilai inhibisi 95,7%.

Kata kunci: Spons *Stylissa carteri*, antioksidan, DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai pusat segitiga karang dunia merupakan kawasan dengan tingkat keanekaragaman hayati laut yang sangat tinggi dengan lebih dari 500 spesies karang, 18% terumbu karang dunia berada di perairan Indonesia. Keanekaragaman hayati laut lainnya antara lain 2.500 jenis ikan, 2.500 jenis moluska, 1.500 jenis terumbu karang (Kementrian Kelautan dan Perikanan Indonesia, 2012).

Spons ialah salah satu hewan dari filum porifera juga merupakan invertebrata laut yang hidup pada ekosistem terumbu karang. Spons merupakan biota laut multi sel yang fungsi jaringan dan organnya sangat sederhana. Spons *Stylissa carteri* dapat menghasilkan metabolit sekunder dari proses metabolisme dalam sel yang ada pada tubuhnya. Ekstrak dari spons dipercaya memiliki senyawa bioaktif yang mempunyai sifat sitotoksin, anti tumor, antivirus, dan anti inflamasi (Header, 2016). Spons laut telah menunjukkan manfaat dalam bidang farmasi karena berbagai macam senyawa bioaktif yang diisolasi dari organisme yang relatif sederhana ini (Barbosa dkk., 2018).

Tubuh dapat menghasilkan antioksidan dari metabolisme sel tubuh namun dengan meningkatnya jumlah radikal bebas, tubuh perlu didukung oleh asupan antioksidan (Ginting, dkk., 2009). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi (Simanjuntak, 2012). Cara kerjanya yaitu menghentikan reaksi radikal bebas dari metabolisme di dalam tubuh ataupun dari lingkungan (Meigaria dkk., 2016). Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya. Radikal bebas dapat bereaksi dengan molekul yang merupakan komponen sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul. Radikal bebas tersebut dapat mengoksidasi asam nukleat, protein, lemak bahkan DNA sel dan menginisiasi timbulnya penyakit degeneratif (Reynertson, 2007). Kerja radikal bebas dapat dihambat oleh antioksidan yakni zat yang

dapat memperlambat dan mencegah terjadinya oksidasi molekul.

Spons *Stylissa carteri* terdapat di bawah laut dan spons ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa- senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat. Ada lebih sedikit studi tentang *Stylissa carteri* sebagai anti kanker. Sebuah studi menemukan bahwa *Stylissa carteri* berisi beberapa kelompok senyawa, seperti alkaloid dan peptida (Hardani dkk., 2018).

Berdasarkan hasil penelitian dari Krisnawati dkk., 2021 bahwa ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* dari perairan Teluk Manado memiliki aktivitas antioksidan yang kuat pada setiap konsentrasi dan aktivitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 10mg/L dengan nilai rata-rata inhibisi 90,83% (Krisnawati dkk., 2021).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan sejak bulan Oktober 2021 sampai bulan Maret 2022 di laboratorium farmasi lanjut program studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Jenis Penelitian

Jenis dari penelitian ini adalah eksperimental laboratorium yang akan menguji aktivitas dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2- pikrilhidrazil*) dari ekstrak dan fraksi spons *Stylissa carteri* yang diperoleh dari Pulau Manado Tua.

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spektrometer, kamera, masker, sarung tangan, gunting, pisau, tabung oksigen, snorkel, fins, kertas label, tissue, spidol permanen, pulpen, zipper lock bag, botol plastik kemasan 600 ml, talenan, cool box, corong, aluminium foil, erlenmeyer, timbangan analitik, rotary evaporator, spatula, corong pisah, cawan petri, vortex, tabung reaksi, rak tabung reaksi dan mikro pipet tetes.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 95%, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), *Stylissa carteri*, kloroform 2 botol 3,5 L, n-heksan 8 L, dan metanol.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel dan Preparasi Sampel

Sampel spons *Stylissa carteri* diambil dari Pulau Manado Tua dengan menggunakan alat bantu (masker, tabung udara, snorkel dan *fins*). Sampel difoto dengan kamera kemudian diambil, lalu dimasukkan kedalam *zipper lock bag* dan disimpan didalam *cool box*. Kemudian sampel langsung dibawa ke Laboratorium Penelitian Lanjutan Program Studi Farmasi Universitas Sam Ratulangi. Spons *Stylissa carteri* yang sudah diambil lalu dicuci dan dipotong-potong kecil lalu ditimbang dengan berat keseluruhan dan berat botol sebanyak 531 g sampel dimasukkan kedalam wadah botol, sampel dimaserasi dengan etanol 95% sebanyak 200 mL.

Ekstraksi

Sampel spons *Stylissa carteri* sebanyak 531 g dimaserasi dengan pelarut etanol 95% sebanyak 200 mL dengan 3 kali pengulangan selama 24 jam. Sampel kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk mendapatkan filtrat. Hasil yang didapatkan kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga menghasilkan ekstrak kasar dari sampel *Stylissa carteri*. Penyaringan ini dilakukan untuk menghilangkan sisa garam pada ekstrak kental.

Fraksinasi

Ekstrak kasar spons *Stylissa carteri* dimasukkan kedalam 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 lalu dikocok berulang kali sampai homogen. Dibiarkan sampai terbentuk lapisan MeOH dan n-heksan. Masing-masing lapisan

ditampung dalam wadah yang berbeda. Lapisan n-heksan selanjutnya dievaporasi menggunakan rotary evaporator hingga kering, lalu ditimbang dan ini disebut fraksi n-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 dan Fraksi Spons *Stylissa carteri*

Untuk membuat larutan ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm dilakukan dengan cara melarutkan 10 mg ekstrak etanol spons *Stylissa carteri* kedalam 100 mL etanol 95% dalam labu terukur kemudian divortex. Perlakuan yang sama dilakukan pada fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol.

Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Untuk pembuatan larutan DPPH ditimbang sebanyak 5 mg serbuk DPPH dan dilarutkan dalam 100 mL etanol 95%, dalam labu ukur kemudian divortex sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 ppm. Larutan didiamkan selama 30 menit dan disimpan dalam wadah tertutup rapat serta ditutupi dengan aluminium foil agar terlindung dari sinar matahari.

Pengujian Lrutan Kontrol DPPH

Larutan kontrol dibuat dengan mencampur 2 ml etanol 95% dan 2 ml larutan DPPH 50 ppm dikocok hingga homogen dan diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit kemudian diukur panjang gelombang 517 nm.

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Larutan uji sampel dibuat dengan cara sebanyak 2 mL larutan DPPH ditambahkan kedalam 2 mL larutan sampel ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi metanol kemudian dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan yaitu 37°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH. Perubahan warna ungu menjadi kuning menandakan efisiensi penangkal radikal bebas, Masing-masing sampel dilakukan 3 kali pengulangan. Semua sampel yaitu sampel ekstrak dan fraksi yang telah di inkubasi diuji 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

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel segar spons *Stylissa carteri* diambil dari perairan pulau Manado Tua, diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan dalam proses ekstraksi karena proses pengerjaannya yang sederhana serta tidak melibatkan pemanasan sehingga zat aktif yang termofobik dari sampel tidak akan rusak. Proses ekstraksi terjadi akibat dari perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel, hal ini memaksa pelarut untuk berpenetrasi ke dalam rongga sel sehingga zat aktif di dalamnya akan terlarut ke dalam pelarut organik yang berdifusi ke dalam sel (Marjoni, 2016).

Pelarut etanol 95% digunakan sebagai larutan penyari karena memiliki sifat selektif, tidak toksis dan bersifat universal sehingga cocok digunakan untuk mengekstrak berbagai senyawa metabolit sekunder (Watupungoh, dkk., 2019). Proses maserasi dilakukan dengan tiga kali pengulangan atau remaserasi selama 3×24 jam, sebagai langkah untuk

memaksimalkan proses penarikan sekaligus memastikan seluruh metabolit sekunder dalam sampel segar sudah ditarik seluruhnya (Muji pradana dkk, 2018). Filtrat yang didapat selanjutnya diuapkan pada suhu 40°C untuk menjaga kandungan kimia ekstrak selama proses penguapan, baru didapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental dari proses ekstraksi selanjutnya difraksinasi untuk memisahkan senyawa-senyawa kimia berdasarkan tingkat kepolarannya menggunakan tiga pelarut yang berbeda. Metode fraksinasi cair-cair yang dilakukan menggunakan pelarut metanol untuk menarik senyawa polar, pelarut kloroform untuk menarik senyawa semi-polar, dan pelarut n-heksan untuk menarik senyawa non polar. Proses penggojokan dilakukan untuk pertama menyebarkan sampel dalam dua pelarut yang tidak tercampur dan kemudian didiamkan sehingga kembali terbentuk dua lapisan pelarut yang berbeda. Pelarut dengan massa jenis ringan akan berada pada bagian atas corong pisah, sedangkan yang massa jenisnya berat berada pada bagian dasar corong pisah. Hasil fraksinasi kemudian diuapkan kembali untuk didapatkan ekstrak kental dari masing-masing fraksi.

Hasil

Tabel 1. Rendemen ekstrak dan fraksi spons *Stylissa carteri*

| No | Sampel | Berat (g) | Rendemen (%) |
|----|------------------|-----------|--------------|
| 1 | Ekstrak Kasar | 34 | 6,40 |
| 2 | Fraksi n-Heksan | 1 | 5,88 |
| 3 | Fraksi Kloroform | 1 | 5,88 |
| 4 | Fraksi Metanol | 10 | 58,82 |

Tabel 2. Hasil pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi spons (*Stylissa carteri*) dengan DPPH konsentrasi 100 ppm.

| Ekstrak/ Fraksi | Pengulangan | | | Rata-rata |
|--------------------|-------------|-------|--------|-----------|
| | I | II | III | |
| Ekstrak kasar | 96,2 % | 95,9% | 95% | 95,7% |
| Fraksi n-Heksan | 76,4 % | 72,1% | 76,3 % | 74,93 % |
| Fraksi Kloroform | 91,1 % | 90,9% | 90,5 % | 90,83 % |
| Fraksi Metanol | 92,3 % | 92,3% | 93,1 % | 92,56 % |

Pembahasan

Pada Tabel 1 simplisia sebanyak 531 g yang di ekstraksi menggunakan etanol 95% menghasilkan ekstrak kasar sebanyak 34 g, sehingga mendapatkan rendemen 6,40%. Kemudian diambil ekstrak kasar sebanyak 17 g difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, kloroform dan metanol. Ekstrak kasar spons *Stylissa carteri* di fraksinasi dengan metanol air kemudian dipartisi dengan pelarut n-heksan menghasilkan 2 lapisan, yaitu lapisan n-heksan dan lapisan metanol, massa ekstrak yang diperoleh 1 g dengan nilai rendemen yang diperoleh 5,88%. Lapisan metanol dipartisi kembali dengan pelarut kloroform hingga menghasilkan 2 lapisan yaitu lapisan kloroform dan lapisan metanol didapati ekstrak fraksi kloroform 1 g dengan nilai hasil rendemen 5,88%. Dan untuk lapisan metanol, massa ekstrak yang diperoleh yaitu 10 g dengan nilai rendemen 58,82%.

Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu spons *Stylissa carteri* yang diperoleh dari Pulau Manado Tua. Sampel dibersihkan lalu dipotong kecil-kecil. Hal ini bertujuan untuk memperluas kontak dan meningkatkan daya interaksinya dengan pelarut. Sampel kemudian di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan pelarut yang digunakan ialah etanol 95%. Kemudian difraksinasi dengan pelarut n-Heksan, Kloroform dan Metanol.

Penjelasan tentang data pada Tabel 2, dilakukan perbandingan pengujian adanya senyawa antioksidan dan didapati hasil dari pelarut n-heksan, kloroform, metanol dan ekstrak etanol yang telah dilakukan masing-

masing sebanyak 3 kali pengulangan. Pengukuran absorbansi dalam penelitian ini dilakukan panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 517 nm dengan absorbansi sebesar 0,719 dalam konsentrasi 100 ppm. Pengujian dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk mengetahui absorbansi DPPH yang tersisa setelah ditambahkan sampel uji dengan berbagai konsentrasi. Jika suatu senyawa memiliki aktivitas sebagai penangkal radikal bebas, maka akan terjadi penurunan nilai absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum 517 nm.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengujian DPPH pada setiap masing-masing jenis sampel dilihat dalam Tabel 2, menunjukkan nilai persen inhibisi dalam konsentrasi 100 ppm dan jika dilihat dari pengulangan pertama sampai ketiga stabil. Pada sampel ekstrak kasar spons *Stylissa carteri* menunjukkan nilai persen inhibisi paling tertinggi yaitu rata-rata 95,7% dan diikuti dengan metanol. Peningkatan persen inhibisi yang terjadi pada ekstrak menandakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka absorbansi sampel akan menurun dan tingkat inhibisi akan naik. Absorbansi sampel turun karena elektron pada DPPH menjadi berpasangan dengan elektron sampel yang mengakibatkan warna larutan berubah dari ungu pekat menjadi kuning bening, maka semakin besar pula persen inhibisi (Hanani et al., 2005). Sedangkan dibandingkan dengan kemampuan menangkap radikal bebas fraksi n-heksan dan kloroform adalah kategori lemah karena dapat dilihat dari perubahan warna DPPH yang tidak berubah.

Hasil reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan dapat diketahui melalui perubahan warna DPPH dari ungu pekat menjadi kuning yang terjadi akibat donasi proton yang dilakukan oleh antioksidan bahan alam kepada DPPH. Perubahan warna ini dijadikan sebagai patokan pengukuran pada spektrofotometer (Molyneux, 2004).

Hasil penelitian Andayani et al. (2008) menyatakan bahwa pada konsentrasi yang lebih tinggi akan menunjukkan aktivitas

antioksidan yang lebih tinggi. Menurut Kim (2005), Kapasitas penangkapan radikal bebas ditunjukkan dengan persentase berkurangnya warna ungu dari DPPH.

Aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dari ekstrak maupun fraksi dari spons *Stylissa carteri* dari perairan pulau Manado Tua menunjukkan aktivitas antioksidan dengan kategori lebih tinggi yaitu 95,7%, sedangkan sampel spons *Stylissa carteri* yang diambil dari perairan Teluk Manado menunjukkan aktivitas yang tertinggi hanya pada 90,83% (Krisnawati dkk., 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa spons *Stylissa carteri* yang diambil dari perairan pulau Manado Tua memiliki aktivitas antioksidan yang kuat disetiap larutan uji. Sampel ekstrak kasar spons *Stylissa carteri* menunjukkan nilai persen inhibisi paling tertinggi yaitu dengan rata-rata 95,7% dan diikuti dengan fraksi metanol.

SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh, disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan ekstrak dalam sediaan farmasi atau melakukan pengujian terhadap aktivitas farmakologis lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

Andayani, R., Lisawati, Y., dan Maimunah. 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum* L). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13(1): 1-9.

Barbosa, M. C. S., de Souza Barbosa, C., de Oliveira, J. T., Moreira, N. C. S., de Miranda Martins, N. R., Gomes, G. K. A., dan Nascimento Jr, C. S. (2018). Synthesis And Evaluation Of The Mutagenicity Of 3-Alkylpyridine Marine Alkaloid Analogues With Anticancer Potential. *Mutation Research/Genetic*

Toxicology and Environmental Mutagenesis, 825, 31-.

Gozcelioğlu, B., Konuklugil, B., 2012, Qualitative Detection of Some Secondary Metabolites from Three Turkish Marine Sponges, *Fabard J. Pharm. Sci.*, 37: 73-78.

Haedar, Baru Sadarun, Ratna Diyah Palupi, 2016. Potensi keanekaragaman Jenis dan Sebaran Spons di Perairan Pulau Saponada Laut, Kabupaten Konawe, *Jurnal Sapa Laut Vol. 1 (1):1-9.*)

Hanani, E, Sekarini R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callispongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2 (3): 127-133.

Hardani IN, Damara FA, Nugrahani AD, Bashari MH. Ethanol extract of *Stylissa carteri* induces cell death in parental and paclitaxel-resistant cervical cancer cells. *International Journal of Integrated Health Sciences*. 2018;6(2):91-6.

Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis Retrofracti Fructus*). Skripsi. UIN Jakarta.

Kementrian kelautan & perikanan Indonesia. (2012). Keanekaragaman hayati laut untuk pengembangan kawasan konservasi perairan di Indonesia. Jakarta: Kementrian kelautan & perikanan Indonesia.

Kim, O.S. 2005. Radical scavenging capacity and antioksidant activity of the E vitamer fraction in rice bran. *Journal of Food Science*. 70(3): 208-213.

Krisnawati S, Adithya Y, Irma A., 2021. Uji AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL SPONS (*Stylissa* sp.) YANG DIKOLEKSI DARI TELUK MANADO. *Jurnal PHARMACON 2021 Vol 10 Hal.760*.

Marjoni, R. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia. Jakarta: Trans Info Media.

- Meigaria, Komang Mirah, I Wayan Mudianta, and Ni Wayan Martiningsih. 2016. "Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (Moringa Oleifera)." *Jurnal Wahana Matematika dan Sains* 10(2): 1–11.
- Molyneux, P. 2004. The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity, Songklanakarin, J. Sci.Technol. 26 (2), 211-219.
- Mujipradhana. V. N, D. S. Wewengkang dan E. Suryanto. 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak Ascidian *Herdmania momus* pada Mikroba Patogen Manusia. Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi: Manado.
- Ningrum, M.P. 2017. Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumput Laut Merah (*Euchema cottonii*). Tesis. Tidak dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya, Malang.
- Pratiwi, E. 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi Dan Reperkolasi Dalam Ekstraksi Senyawa Aktif *Andrographolide* Dari Tanaman *Sambiloto* (*Andrographis paniculata* Nee). Skripsi. Tidak dipublikasikan. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Rohman, A, Riyanto S, Yuniarti N., Saputra W.R., Utami R. Mulatsih W. 2010. Antioxidant Antivity, Total phenolic and Total Flavanoid of extracts and fractions of Red Fruit (*Padanus conoideus* Lam). *International Food Research Journal*. 17, 97-106.
- Silalahi, J. 2006. Makanan Fungsional. Kanisius. Jogjakarta.
- Simanjuntak, Kristina. 2012. "Peran Antioksidan Flavonoid Dalam Meningkatkan Kesehatan." FK UPN Veteran Jakarta 3.
- Utomo, A.R., Retnowati, R., Guswono, U.P. Pengaruh Konsentrasi Minyak Kenanga (*Cananga odorata*) Terhadap Aktivitasnya Sebagai Anti Radikal Bebas. *Kimia Student Journal*. 2013. 1(2). Hal. 265.
- Watupungoh, C. C. A., Defny S. Wewengkang, Henki Rotinsulu. 2019. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak dan Fraksi Organisme Laut Spons *Stylissa carteri* yang Dikoleksi dari Perairan Selat Lembeh Kota Bitung. *Jurnal Pharmacon*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, 3(8):664-666.
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Kanisius, Yogyakarta. WoRMS Porifera: World Porifera Database. Soest R. van (ed), 22 Oktober 2008.