IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF DAN POTENSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN LAMUN *Enhalus acoroides* (Linn. F)

Rega Permana[1,*], **Aulia Andhikawati**[1], **Nora Akbarsyah**[1], **Pringgo Kusuma D. N. Y. Putra**[1]
[1]Program Studi Perikanan, PSDKU UNPAD Pangandaran
[*]Korespondensi: rega.permana@unpad.ac.id

ABSTRAK

Penggunaan senyawa antioksidan sintetik memiliki kekurangan terutama dalam segi toksisitas dan keamanan sehingga pencarian kandidat senyawa antioksidan alami menjadi penting untuk dilakukan. Lamun jenis *Enhalus acoroides* merupakan jenis lamun yang tersebar luas di wilayah perairan Indonesia dan telah banyak dilaporkan memiliki potensi tinggi sebagai sumber senyawa bioaktif. Riset ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung pada daun lamun *Enhalus acoroides* dan mengetahui potensi aktivitas antioksidannya. Sampel lamun didapatkan dari perairan Pulau Biawak, Kabupaten Indramayu. Identifikasi senyawa bioaktif dilakukan secara kualitatif dengan mempertimbangkan perubahan warna maupun terbentuknya busa dan endapan. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1,-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Hasil riset menunjukkan bahwa sampel daun lamun *Enhalus acoroides* mengandung senyawa bioaktif berupa alkaloid, steroid dan tanin. Hasil ekstraksi menggunakan pelarut metanol menunjukan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun lamun *Enhalus acoroides* tergolong sedang dengan nilai IC50 148,67 ppm. Secara keseluruhan, lamun jenis *Enhalus acoroides* ini memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat bahan aktif antioksidan.

Keywords: Antioksidan, DPPH, Ekstraksi, *Enhalus acoroides*, Senyawa Bioaktif

BIOACTIVE COMPOUND IDENTIFICATION AND ANTIOXIDANT ACTIVITY POTENTIAL OF SEAGRASS *Enhalus acoroides* (Linn. F)

ABSTRACT

The use of synthetic antioxidant compounds has several drawbacks, especially in terms of toxicity and safety, so that the search for candidate natural antioxidant compounds is increasingly important. *Enhalus acoroides* is a seagrass that is widespread in the waters of Indonesia and has been reported to have high potential as a source of bioactive compounds. This study aimed to identify bioactive compounds contained in the leaves of the seagrass *Enhalus acoroides* and to determine their antioxidant activity potential. Seagrass samples were obtained from the waters of Biawak Island, Indramayu Regency. The identification of bioactive compounds was carried out qualitatively by considering the change in colour as well as bubble and precipitate formation. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH (1, 1, -diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. The results showed that the sampled of *Enhalus acoroides* seagrass leaves contained bioactive compounds in the form of alkaloids, steroids and tannins. The *Enhalus acoroides* methanol solvent extraction product showed antioxidant activity which was classified as moderate with an IC50 value of 148.67 ppm. This result indicates that the seagrass *Enhalus acoroides* shows the potential for further development as an active antioxidant candidate.

Keywords: *Antioxidant, Bioactive Compounds, DPPH, Extraction, Enhalus acoroides*

PENDAHULUAN

Peningkatan jumlah produksi antioksidan sintetik selama beberapa tahun terakhir menjadi perhatian khusus terutama dalam segi keamanan dan toksisitasnya. Beberapa antioksidan sintetik seperti butylhydroxyanisole (BHA) and butylhydroxytoluene (BHT) dilaporkan memeliki efek *carcinogenic* pada penggunaannya (Wang, 2016). Selain itu, penggunaan antioksidan sintetik ini juga diketahui dapat menyebabkan mutasi gen serta meningkatkan toksisitas logam berat arsenik pada mencit (Polaki, 2017). Penggunaan senyawa sintetik juga memiliki dampak buruk bagi lingkungan (Fang et. al 2019),

sedangkan penggunaan senyawa antioksidan alami yang cenderung lebih aman dan mudah didapatkan lebih diutamakan untuk dikembangkan lebih lanjut.

Indonesia sebagai negara kepulauan terbesar di dunia, memiliki potensi sumberdaya laut yang melimpah (Nurwadjedi dan Hartini 2018). Sebagai negara beriklim tropis, karakteristik perairan Indonesia cocok untuk beberapa ekosistem penting, termasuk padang lamun. Luasan ekosistem padang lamun di Indonesia yang tervalidasi mencapai 293.464 Ha, yaitu 16-35% potensi luas lamun yang ada di Indonesia (Sjafrie et. al 2018). Beberapa spesies lamun tersebar di perairan Indonesia, namun jenis lamun *Enhalus acoroides* adalah spesies yang paling sering ditemukan di perairan Indonesia (Rahman, Nur dan Ramli 2016). Selain memiliki peran dalam ekosistem terutama sebagai nursery dan feeding ground bagi banyak organisme laut (Tangke 2010), lamun *Enhalus acoroides* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai sumber senyawa bioaktif (Dewi, Soedharma dan Kawaroe 2012).

Lamun jenis *Enhalus acoroides* telah banyak diteliti dan dilaporkan memiliki kandungan senyawa aktif dengan aplikasi yang luas termasuk antibakteri dan antioksidan (Amirah 2019) serta antifouling (Nurafni dan Nur 2018). Beberapa senyawa aktif yang dilaporkan terkandung di dalam *Enhalus acoroides* diantaranya adalah tanin dan Saponin (Dewi, Kasitowati dan Siagian 2018). Namun beberapa sumber juga mengatakan bahwa *Enhalus acoroides* mengandung triterpenoid, flavonoid dan steroid (Pradana *et al*, 2018). Pengembangan lamun *Enhalus acoroides* terutama sebagai kandidat bahan aktif untuk antioksidan belum sepenuhnya teroptimalkan, meskipun telah banyak penelitian yang melaporkan potensinya. Penelitian ini akan mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif pada daun lamun jenis *Enhalus acoroides* yang berasal dari Pulau Biawak Kabupaten Indramayu, serta menguji aktivitas antioksidan dari ekstrak kasarnya menggunakan metode DPPH (1, 1, -diphenyl-2-picrylhydrazyl).

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah bunsen, gelas ukur, kertas saring, neraca analitis, penjepit, pipet tetes, plat tetes, tabung reaksi, batang pengaduk, kertas saring, corong saring, erlenmeyer, *rotary evaporator*, inkubator, rak tabung, vortex, mikropipet dan UV-Vis spektrofotometer. Bahan – bahan yang digunakan diantaranya adalah ammonia 10%, $CHCl_3$ 25%, $FeCl_3$ 1%, HCl 1N, HCl 2M dan HCl Pekat, NaCl, pereaksi meyer, pereaksi wagner, n-heksan, methanol, etil asetat dan DPPH. Sampel *Enhalus acoroides* yang digunakan berupa bagian daun didapatkan dari perairan Pulau Biawak, Kabupaten Indramayu, Provinsi Jawa Barat.

Identifikasi Senyawa Bioaktif

Identifikasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun *Enhalus acoroides* dilakukan secara kualitatif dengan prinsip pembentukan endapan, warna dan busa (Sidi *et al*, 2018). Pengujian kandungan fitokimia dilakukan terhadap sampel daun yang telah dikeringkan dan dihaluskan sehingga memiliki luas permukaan yang lebih besar. Senyawa bioaktif berupa metabolit sekunder yang diuji secara kualitatif meliputi alkaloid, terpenoid, saponin, tanin dan flavonoid.

Pengujian senyawa alkaloid menggunakan dua pereaksi yaitu pereaksi meyer dan pereaksi wagner. Hasil positif untuk uji alkaloid akan menunjukan endapan coklat kemerahan pada saat ditambahkan pereaksi meyer dan membentuk endapan putih saat ditambahkan pereaksi wagner (Sangi *et. al* 2019). Pengujian steroid menunjukan warna biru atau ungu jika positif terdapat senyawa steroid (Rumagit 2015). Sementara untuk pengujian senyawa tanin, hasil positif akan menunjukan perubahan warna hijau kehitaman atau biru tua (Malangngi, Sangi dan Paendong 2012). Hasil positif untuk uji saponin akan menunjukan pembentukan busa yang stabil selama kurang lebih 10 menit. Untuk uji flavonoid akan menunjukan perubahan warna orange ungu apabila positif sementara uji fenolik akan menghasilkan warna biru ungu jika terbukti positif (Rumagit 2015).

Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan mengacu pada metode Cujic et. al (2016) yang modifikasi menggunakan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda yaitu methanol, etil asetat dan n-heksan. Metode yang

digunakan adalah metode maserasi yaitu perendaman sampel dalam pelarut dengan perbandingan 1:20 (*b/v*) selama tiga hari. Volume pelarut sebanyak 100 mL ditambahkan pada sampel yang telah dihaluskan sebanyak lima gram kemudian dilakukan ekstraksi secara maserasi selama tiga hari. Setelah itu filter dari hasil maserasi diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu sesuai titik didih masing – masing pelarut. Ekstrak kasar yang didapatkan kemudian dibuat sediaan dalam berbagai konsentrasi (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm) untuk pengujian selanjutnya.

Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode spektrofotometri mengacu pada Molyneux (2004). Larutan ekstrak dengan masing-masing konsentrasi yaitu 0 ppm (kontrol), 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm diambil 4.5 mL dan direaksikan dengan 500 µl larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi. Larutan blanko dibuat dengan meraksikan 4.5 mL pelarut methanol dengan 500 µl larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi. Setelah itu larutan dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif kemudian dibandingkan dengan literatur yang telah terpublikasi. Nilai inhibisi DPPH didapatkan dengan menggunakan perhitungan berdasarkan Siesler (2017) sebagai berikut:

$$\%\ inhibisi = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\% \quad (1)$$

Sementara untuk mendapatkan nilai IC50, analisis menggunakan regresi linear dilakukan dengan menggunakan data inhibisi disetiap konsentrasi yang diujikan (Siswarni dan Putri 2017). Perhitungan dan konstruksi grafik linear digunakan menggunakan program Microsoft Excel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil Senyawa Bioaktif daun *Enhalus acoroides*

Sampel daun dari lamun *Enhalus acoroides* yang telah dikeringkan dan dihaluskan diuji secara kualitatif kandungan bioaktifnya. Pengujian senyawa bioaktif secara kualitatif dilakukan dengan berbagai pereaksi yang akan menghasilkan endapan, warna ataupun busa sebagai penanda terdeteksinya senyawa yang diujikan. Kandungan senyawa bioaktif yang terkandung dalam sampel daun lamun *Enhalus acoroides* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi senyawa bioaktif pada daun lamun *Enhalus acoroides*

No.	Uji Fitokimia		Hasil (+/-)
1.	Alkaloid I	Pereaksi meyer*	+
		Pereaksi wagner*	+
2.	Flavanoid I		-
3.	Flavanoid II		-
4.	Senyawa Fenolik		-
5.	Steroid		+
6.	Triterpenoid		-
7.	Tanin		+
8.	Saponin		-

**Hasil saat penambahan larutan pereaksi*

Hasil pengujian sampel daun lamun *Enhalus acoroides* menunjukkan positif yang menandakan bahwa terdapat senyawa aktif golongan alkaloid pada daun *Enhalus acoroides*. Selain itu, pengujian yang

menunjukan hasil positif adalah pada senyawa steroid. Senyawa lain yang terdeteksi positif pada lamun *Enhalus acoroides* adalah tanin. Sementara itu untuk uji senyawa lain seperti flavonoid, fenolik, triterpenoid dan saponin menunjukan hasil negatif.

Ekstraksi sampel daun lamun *Enhalus acoroides*

Hasil ekstraksi yang didapatkan dari setiap pelarut dapat dilihat pada tabel 2. Hasil ekstraksi menunjukan bahwa pelarut terbaik yang mampu mengekstraksikan kandungan senyawa bioaktif secara maksimal pada sampel daun lamun *Enhalus acoroides* adalah metanol dengan rendemen 20,1%. Sementara untuk pelarut etil asetat dan n-heksan kurang dari 1%.

Tabel 2. Hasil ekstraksi sampel daun lamun *Enhalus acoroides* menggunakan tiga pelarut

Sampel	Pelarut	Ulangan	Volume filtrat (ml)	Rata-rata berat ekstrak (gr)	Rata-rata rendemen (%)	Warna filtrat
Enhalus acoroides	N-heksan	1 2	34,5 37	0,0031	0,031	Kuning Bening
	Etil asetat	1 2	38 38	0,0163	0,163	Hijau Muda
	Metanol	1 2	38 34	2,01	20,1	Hijau Tua

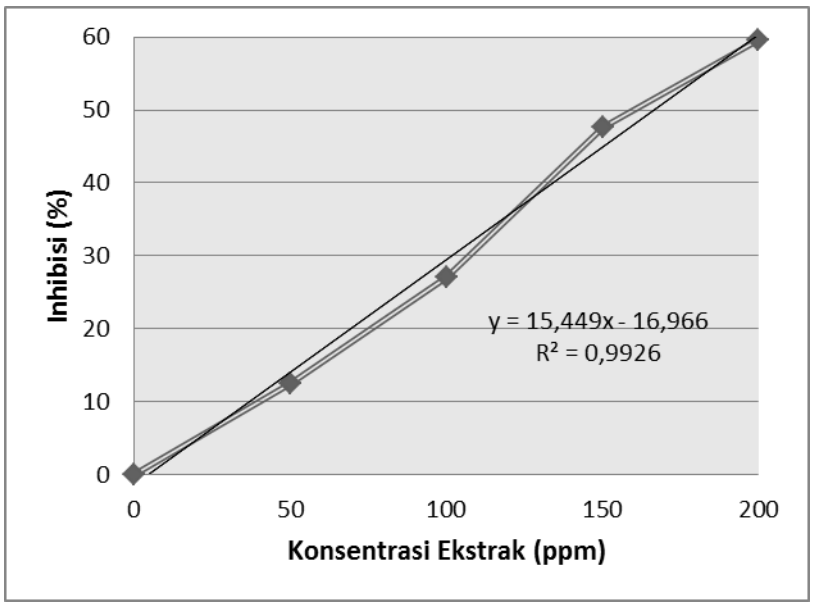
Hal ini karena sifat pelarut metanol yang polar dan sesuai dengan kandungan senyawa bioaktif yang sebelumnya telah teruji positif pada sampel yaitu alkaloid, steroid dan tanin. Karena rendemen terbaik didapatkan dari ekstraksi menggunakan pelarut metanol, maka untuk proses pengujian selanjutnya yaitu uji aktivitas antioksidan, ekstrak kasar yang digunakan adalah ekstrak metanol daun lamun *Enhalus acoroides* yang dibuat pada seri konsentrasi berbeda.

Uji aktivitas Antioksidan

Absorbansi dan inhibisi yang dihasilkan untuk setiap konsentrasi yang diujikan dapat dilihat pada Tabel 3. Dapat dilihat bahwa nilai inhibisi berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak, membentuk kurva linear (Gambar 1).

Tabel 3. Hasil absorbansi dan % inhibisi ekstrak asar daun lamun *Enhalus acoroides*

Konsentrasi ekstrak daun lamun (ppm)	Absorbansi	Inhibisi (%)
0	0,5405	0
50	0,473	12,48844
100	0,394	27,10453
150	0,283	47,64107
200	0,218	59,66698



Gambar 1. Grafik hubungan linear antara konsentrasi ekstrak dengan % inhibisi

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan kisaran konsentrasi ekstrak mulai dari 0 ppm (kontrol) sampai 200 ppm menunjukan bahwa konsentrasi ekstrak metanol daun lamun *Enhalus acoroides* berpengaruh terhadap % inhibisi DPPH dengan nilai R^2 = 0,9926. Menurut Molyneux (2004), suatu bahan alam dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat apabila memiliki nilai IC50 kurang dari 50 ppm, kuat apabila IC50 diantara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC50 diantara 100-150 ppm dan lemah apabila IC50 berada di kisaran 150-200 ppm. Hasil perhitungan IC50 dengan menggunakan persamaan linear adalah 148,67 ppm, yang berarti bahwa ekstrak metanol lamun *Enhalus acoroides* berada pada kisaran sedang. Nilai ini masih relatif jauh apabila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan vitamin C yang berada di kisaran sangat kuat dengan IC50 2,33 ppm, namun sebanding dengan nilai IC50 untuk ekstrak organ dalam teripang (126,19 ppm) yang juga berada dikisaran sedang (Oktaviani *et al*, 2015).

Senyawa DPPH adalah salah satu senyawa golongan radikal bebas yang relatif stabil dan dapat bereaksi dengan hidrogen dari antioksidan kemudian berubah dalam bentuk tereduksi. Berdasarkan hasil yang didapat, semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanol daun lamun yang diujikan semakin rendah absorbansi DPPH yang dihasilkan. Hal ini membuktikan bahwa terdapat aktivitas penangkapan radikal bebas dari ekstrak metanol daun lamun yang terukur secara kolorimetri melalui absorbansi pada panjang gelombang 517 nm (Szabo et. al 2007). Pengukuran kuantitatif terhadap aktivitas antioksidan suatu bahan dapat diketahui berdasarkan peluruhan warna ungu (Fawzy *et. al* 2017). Jika larutan DPPH ditambahkan pada bahan yang mengandung antioksidan, intensitas warna larutan DPPH akan menurun sesuai dengan konsentrasi dan daya hambat bahan yang mengandung antioksidan (Munifah, Suryaningrum dan Krisnawang 2007).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilalukan, dapat disimpulkan bahwa daun lamun *Enhalus acoroides* mengandung senyawa bioaktif berupa alkaloid, steroid dan tanin. Ekstrak metanol lamun *Enhalus acoroides* terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan kekuatan sedang dengan nilai IC50 148,67 ppm. Daun lamun *Enhalus acoroides* memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai sumber senyawa aktif, mengingat kelimpahannya di perairan Indonesia. Penelitian untuk optimalisasi proses ekstraksi masih diperlukan untuk mendapatkan hasil maksimal. Selain pengukuran kandungan senyawa bioaktif juga perlu dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode pengukuran dan instrumen analitik yang baik untuk mendapatkan gambaran lebih rinci mengenai profil senyawa bioaktif pada daun lamun *Enhalus acoroides.*

DAFTAR PUSTAKA

Aprilia, V., Bhima, S. K. L., & Ismail, A. (2018). Pengaruh Pemberian Butylated Hydroxytoluene (2, 6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol) Per Oral Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologis Ginjal. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 7(2), 1154-1165.

Amirah, N. F. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba, Aktivitas Antioksidan Dan Skrining Fitokimia Ekstrak *Enhalus acoroides* (Doctoral dissertation, Universitas Airlangga).

Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. Food Chemistry, 194, 135-142.

Dewi, C. S. U., Kasitowati, R. D., & Siagian, J. A. (2018). Phytochemical compounds of *Enhalus acoroides* from Wanci Island (Wakatobi) and Talango Island (Madura) Indonesia. *In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 137, No. 1, p. 012045). IOP Publishing. https://doi.org/10.1088/1755-1315/137/1/012045

Dewi, C. S., Soedharma, D., & Kawaroe, M. (2012). Komponen Fitokimia dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Lamun *Enhalus acoroides* dan *Thalassia hemprichii* dari Pulau Pramuka, DKI Jakarta. Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan, 3(2), 23-27. https://doi.org/10.24319/jtpk.3.23-27

Fang, W., Peng, Y., Muir, D., Lin, J., & Zhang, X. (2019). A critical review of synthetic chemicals in surface waters of the US, the EU and China. Environment international, 131, 104994.

Fawzy, G, A., Al-Taweel, A, M., Perveen, S., Khan, S, I., Al-Omary, S, A. (2017). Bioactivity and chemical characterization of Acalypha *fruticosa Forssk*. growing in Saudi Arabia. *Saudi Pharmaceutical Journal*. Volume 25(1), 104-109. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2016.05.004

Malangngi, L., Sangi, M., & Paendong, J. (2012). Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). Jurnal Mipa, 1(1), 5-10. https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.423

Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. sci. technol, 26(2), 211-219.

Munifah, I., Suryaningrum, T. D., & Krisnawang, H. (2007). The Antioxidant Carotenoid Constituent From Marine Macro Algae. Journal of Coastal Development, 9(2), 107-118.

Nurafni, N., & Nur, R. M. (2018). Aktivitas Antifouling Senyawa Bioaktif Dari Lamun di Perairan Pulau Morotai. Jurnal Ilmu Kelautan Kepulauan, 1(2). http://dx.doi.org/10.33387/jikk.v1i2.942.

Nurwadjedi, L. R., & Hartini, S. (2018). Developing one map of national marine resources of Indonesia. In IOP. Conf. Ser.: Earth Environ. Sci (Vol. 162, p. 012028).

Oktaviani, D., Mulyani, Y., & Rochima, E. (2015). Aktivitas Antioksidan Dan Antibakteri Ekstrak Jeroan Teripang Holothuria atra Dari Perairan Pulau Biawak Kabupaten Indramayu. Jurnal Perikanan Kelautan, 6(2 (1)).

Polaki, V. (2017). BHA and BHT Ameliorate the Toxicity of Arsenic through Rap1 and MAPK Pathways in BEAS-2B Cells (Doctoral dissertation, Texas Southern University).

Pradana, N. E., Wardiwira, F. F., Hakim, L., Imamah, A. N., & Istianisa, W. (2018). Efektivitas Ekstrak Lamun Cymodocea Rotundata, Thalassia Hemprichii, Dan Enhalus Acoroides Dari Perairan Jepara Sebagai Antibakteri Pada Fillet Ikan Nila (Oreochromis Niloticus) Selama Penyimpanan. Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology, 13(2), 143-147.

Rahman, A. A., Nur, A. I., & Ramli, M. (2016). Studi Laju Pertumbuhan Lamun (Enhalus acoroides) di Perairan Pantai Desa Tanjung Tiram Kabupaten Konawe Selatan. Jurnal Sapa Laut (Jurnal Ilmu Kelautan), 1(1), 10-16.

Rumagit, H. M. (2015). Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Spons *Lamellodysidea Herbacea*. PHARMACON, 4(3), 183-192.

Sangi, M., Runtuwene, M. R., Simbala, H. E., & Makang, V. M. (2019). Analisis fitokimia tumbuhan obat di Kabupaten Minahasa Utara. Chemistry Progress, 1(1), 47-53. https://doi.org/10.35799/cp.1.1.2008.26.

Sidi, N., Aris, A, Z., Yusuff, F, M., Looi, L, J., Mokhtar, N, F. 2018. Tape seagrass (*Enhalus acoroides*) as a bioindicator of trace metal contamination in Merambong shoal, Johor Strait, Malaysia. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 126, 113-118. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.041

Siesler, H, W. (2017). Near-Infrared Spectra, Interpretation. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)*. Pages 30-39. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12173-0

Siswarni, M. Z., & Putri, Y. I. (2017). Ekstraksi Kuersetin Dari Kulit Terong Belanda (Solanum betaceum Cav.) Menggunakan Pelarut Etanol dengan Metode Maserasi Dan Sokletasi. Jurnal Teknik Kimia USU, 6(1), 36-42.

Sjafrie, N. D. M., Hernawan, U. E., Prayudha, B., Supriyadi, I. H., & Iswari, M. Y. (2018). Status Padang Lamun di Indonesia 2018, 2. Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.

Szabo, M. R., Idiţoiu, C., Chambre, D., & Lupea, A. X. (2007). Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. Chemical Papers, 61(3), 214-216. https://doi.org/10.2478/s11696-007-0022-7.

Tangke, U. (2010). Ekosistem padang lamun (manfaat, fungsi dan rehabilitasi). Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan, 3(1), 9-29.

Wang, W., Kannan, P., Xue, J., Kannan, K. (2016). Synthetic phenolic antioxidants, including butylated hydroxytoluene (BHT), in resin-based dental sealants. *Environmental Research*. Vol. 151, 339-343. https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.07.042