

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN OLIGOSAKARIDA ALGINAT PADA
MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIMEDIASI BAKTERI *Bacillus cereus*
(PTF)**

Skripsi

Oleh

**YUNITA ZIKIRIA
NPM 2114111034**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN OLIGOSAKARIDA ALGINAT PADA
MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIMEDIASI BAKTERI *Bacillus cereus*
(PTF)**

Oleh

YUNITA ZIKIRIA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ALGINATE OLIGOSACCHARIDES IN MICE (*Mus musculus*) MEDIATED BY *Bacillus cereus* (PTF)

By

YUNITA ZIKIRIA

Alginate oligosaccharides (AOS) are hydrolysis products of alginate that are considered to have higher antioxidant potential. Excessive free radical activity in the body can trigger oxidative stress, which contributes to the onset of degenerative diseases. Therefore, efforts to discover effective natural antioxidant sources are important as alternatives to prevent oxidative stress. This study aimed to determine the antioxidant activity of alginate and AOS in vitro using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method, and to evaluate their effects on plasma malondialdehyde (MDA) levels in mice in vivo. OSA was obtained by extracting alginate from *Sargassum sp.* followed by depolymerization through enzymatic activity of *Bacillus cereus*. Antioxidant activity was assessed using the DPPH method to determine the percentage of inhibition, followed by the calculation of the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀), while plasma MDA levels were measured as indicators of lipid peroxidation and oxidative damage. The in vitro assay revealed that both alginate and AOS exhibited very weak antioxidant activity, with IC₅₀ values of 2557 ppm and 1041 ppm, respectively. The in vivo assay demonstrated a decrease in mean plasma MDA levels in several treatment groups; however, statistical analysis indicated that the differences were not significant (P>0.05). In conclusion, OSA has better antioxidant activity compared to alginate, but its effectiveness is still very weak.

Keywords: Alginate Oligosaccharides, Antioxidant, *Bacillus cereus*, IC₅₀, Malondialdehyde, *Mus musculus*

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN OLIGOSAKARIDA ALGINAT PADA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIMEDIASI BAKTERI *Bacillus cereus* (PTF)

Oleh

YUNITA ZIKIRIA

Oligosakarida alginat (OSA) merupakan hasil hidrolisis dari alginat yang memiliki potensi aktivitas antioksidan lebih tinggi. Aktivitas radikal bebas dalam tubuh yang berlebihan dapat memicu stres oksidatif yang akan menyebabkan penyakit degeneratif. Maka diperlukannya upaya untuk menemukan sumber antioksidan alami yang efektif sebagai alternatif dalam mencegah terjadinya stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan alginat dan OSA secara *in vitro* menggunakan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), serta menguji pengaruh terhadap kadar malondialdehid (MDA) plasma darah mencit secara *in vivo*. OSA diperoleh dengan mengestraksi *Sargassum* sp. menjadi alginat dilanjutkan depolimerisasi dengan aktivitas enzimatis dari bakteri *Bacillus cereus*, uji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH hingga didapatkan nilai inhibisi, dilanjutkan pengujian *Inhibition Concentration* 50 (IC₅₀) dan kadar MDA sebagai indikator adanya kerusakan akibat radikal bebas. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa baik alginat maupun OSA memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah dengan nilai IC₅₀ sebesar 2557 ppm dan 1041 ppm. Uji *in vivo* memperlihatkan bahwa rerata kadar MDA pada beberapa kelompok perlakuan mengalami penurunan, namun hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P > 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, OSA memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan alginat namun efektivitasnya masih sangat lemah.

Kata Kunci: Antioksidan, *Bacillus cereus*, IC₅₀, Malondialdehid, *Mus musculus*, Oligosakarida Alginat

Judul Skripsi

: UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

OLIGOSAKARIDA ALGINAT PADA MENCIT

(*Mus musculus*) YANG DIMEDIASI BAKTERI

Bacillus cereus (PTF)

Nama Mahasiswa

: Yunita Zikiria

Nomor Pokok Mahasiswa : 2114111034

Jurusan/Program Studi

: Perikanan dan Kelautan/Budidaya Perairan

Fakultas

: Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

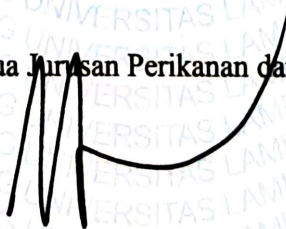


Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.
NIP. 198408052009121003



Almira Fardani Lahay, S.Pi., M.Si
NIP. 199110232022032010

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan



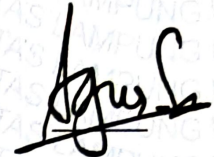
Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.

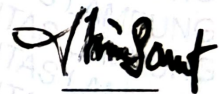


Sekretaris

: Almira Fardani Lahay, S.Pi., M.Si.



Penguji Bukan Pembimbing : Limin Santoso, S.Pi., M.Si



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.

NIP. 196411181989021002

Tanggal lulus ujian skripsi : 18 Juni 2025



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS LAMPUNG
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN

Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145 Telp (0721) 704946 Fax (0721) 770347

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antioksidan Oligosakarida Alginat Pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Dimediasi Bakteri *Bacillus cereus* (PTF)”** tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh pihak lain untuk mendapatkan karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebut dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata dalam naskah skripsi ini ditemukan dan terbukti terdapat unsur-unsur fabrikasi, falsifikasi, plagiat dan konflik kepentingan saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (S1) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Bandar Lampung, 15 Agustus 2025

Yang membuat pernyataan



Yunita Zikiria
NPM. 2114111034

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Kota Prabumulih, Provinsi Sumatera Selatan, pada 29 Juni 2003 sebagai anak dari pasangan suami istri Bapak Amir Sudi dan Ibu Yuningsih Saputri. Penulis menempuh pendidikan formal dari Taman Kanak-kanak di TK Aisyiyah Bustanul Athfal (ABA) 6, Prabumulih, Sumatera Selatan pada tahun 2008-2009, melanjutkan pendidikan dasar di SDN 25 Prabumulih, Sumatera Selatan pada tahun 2009-2015, dilanjutkan ke pendidikan menengah pertama di SMPN 2 Prabumulih, Sumatera Selatan pada tahun 2015-2018, dan pendidikan menengah atas di SMAN 6 Prabumulih, Sumatera Selatan pada tahun 2018-2021.

Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang pendidikan tinggi di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2021. Penulis aktif pada organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (HIMAPIK) sebagai anggota pada periode 2022-2023.

Penulis memiliki pengalaman sebagai asisten dosen pada mata kuliah Ikhtiologi tahun akademik 2023/2024, Imunologi Ikan tahun akademik 2024/2025, juga memiliki pengalaman magang di SUPM Negeri Kotaagung pada tahun 2023. Penulis mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Harapan Mukti, Kecamatan Tanjung Raya, Kabupaten Mesuji, pada tahun 2024 dan melaksanakan kegiatan Praktik Umum di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang, Kabupaten Serang, Banten.

Untuk orang tua tercinta, Ibu Yuningsih Saputri dan Bapak Amir Sudi, serta kedua saudariku, Heppy Kurniati dan Meitriliana Citra, Terima kasih atas segala cinta, pengorbanan, dan doa yang senantiasa menyertai setiap langkahku.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Tuhan yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “*Uji Aktivitas Antioksidan Oligosakarida Alginat Pada Mencit (Mus musculus) yang Dimediasi Bacillus cereus (PTF)*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
2. Munti Sarida, S.Pi. M.Sc. Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
3. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Akademik;
4. Almira Fardani Lahay, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pembantu/Sekretaris;
5. Limin Santoso, S.Pi., M.Si. selaku Penguji Utama;
6. Bapak Amir Sudi dan Ibu Yuningsih Saputri selaku Kedua orang tua penulis
7. Tim Riset HETI (*Higher Education Technology Inovation*) Tahun Anggaran 2024
8. Tim Laboratorium Pengembangan Teknik Industri Agro & Biomedika (LAPTIAB) Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) Serpong, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Bandar Lampung, 22 September 2025

Yunita Zikiria

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Pikir.....	4
1.5 Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Rumput Laut <i>Sargassum</i> sp.....	7
2.1.1 Klasifikasi <i>Sargassum</i> sp.	7
2.1.2 <i>Sargassum</i> sp.	7
2.1.3 Oligosakarida Alginat (OSA)	8
2.2 Mencit.....	11
2.2.1 Klasifikasi Mencit.....	11
2.2.2 Morfologi Mencit.....	11
2.3 Antioksidan	12
2.4 Pengujian Antioksidan	13
III. METODE PENELITIAN	16
1.1 Waktu dan Tempat.....	16
1.1.1 Waktu Penelitian	16
1.1.2 Tempat Penelitian	16
3.2 Bahan dan Alat	16
3.2.1 Bahan	16
3.2.2 Alat	17
3.3 Rancangan percobaan.....	19
3.4 Prosedur Penelitian.....	20
3.4.1 Preparasi Sampel	20
3.4.2 Ekstraksi <i>Sargassum</i> sp.	21
3.4.3 Pembuatan Oligosakarida Alginat (OSA)	21
3.4.4 Pembuatan Stok Larutan DPPH.....	21
3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan	22

3.4.6 Perhitungan IC_{50}	22
3.4.7 Uji Kadar MDA Plasma Darah.....	22
3.4.8 Analisis Data.....	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Hasil.....	24
4.1.1 Uji Aktivitas Antioksidan	24
4.1.2 Perhitungan IC_{50}	24
4.1.3 Uji Kadar MDA Plasma Darah.....	25
4.2 Pembahasan	26
V. SIMPULAN DAN SARAN	28
5.1 Simpulan.....	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	5
2. <i>Sargassum</i> sp.....	8
3. Struktur kimia alginat.....	9
4. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	12
5. Susunan rancangan penelitian.....	20
6. Nilai IC ₅₀ pada Alginat dan OSA.....	24
7. Rerata kadar MDA plasma darah mencit sebelum dan sesudah perlakuan	25

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nama, konsentrasi, merek, dan fungsi/kegunaan bahan penelitian	16
2. Nama, konsentrasi, merek, fungsi/kegunaan alat penelitian	17
3. Nilai persen inhibisi	24
4. Perubahan nilai MDA plasma darah hewan uji.....	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram alir ekstraksi alginat <i>Sargassum</i> sp.	39
2. Dokumentasi penelitian.....	40
3. Uji normalitas, homogenitas, dan ANOVA kadar MDA.....	41

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas adalah molekul atau senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif dan cenderung menyerang molekul lain di sekitarnya (Riskiana & Vifta, 2021) yang dapat disebabkan oleh faktor eksternal seperti sinar ultra violet, polusi, asap rokok, emisi kendaraan, maupun alkohol. Kadar radikal bebas yang melampaui kemampuan netralisir tubuh dapat memicu kondisi stres oksidatif (Nurkhasanah et al., 2023). Menurut Zaetun et al. (2019), radikal bebas menyebabkan peroksidasi lipid dan didekomposisi menjadi malondialdehid (MDA). MDA dapat digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat radikal bebas. Akibat dari reaksi peroksidasi lipid yang terus menerus akan menyerang sel-sel sehat dalam tubuh yang dapat mengakibatkan penyakit, seperti serangan jantung, kanker, katarak, stroke dan menurunnya fungsi ginjal (Fakriah et al., 2019). Tingginya aktivitas radikal bebas yang merugikan tubuh dapat diantisipasi dengan bahan antioksidan (Kamoda et al., 2021).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan menghambat radikal bebas dari molekul yang sangat reaktif (Riskiana & Vifta, 2021). Tubuh memerlukan antioksidan untuk menetralkan radikal bebas guna mencegah kerusakan sel yang berpotensi memicu berbagai penyakit degeneratif seperti hipertensi, penyakit jantung, diabetes, stroke, dan kanker. (Umboro et al., 2020). Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu, antioksidan alami dan antioksidan sintesis (Sasmita et al., 2019). Senyawa-senyawa antioksidan alami biasanya terdapat dalam daun, bunga, buah dan sayur bagian-bagian dari tanaman (Umboro et al., 2020). Beberapa contoh antioksidan sintesis yang diizinkan penggunaannya secara luas untuk digunakan dalam makanan adalah *Butylated Hidroxyanisol* (BHA), *Butylated*

Hidroxytoluene (BHT), *Tert Butylated Hidroxyquinon* (TBHQ) dan tokoferol (Yenrina & Sayuti, 2015). Sumber antioksidan juga bisa diperoleh dari bahan pangan fungsional yang mengandung vitamin A, C, dan E, serta pigmen karotenoid dan senyawa fenolik (Sedjati et al., 2018). Golongan senyawa fenol mengandung komponen bioaktif seperti protein, serat, asam lemak esensial, betaka-roten, dan mineral (Jacoeb et al., 2013). Salah satu bahan alami yang mengandung senyawa antioksidan adalah makroalga cokelat yaitu *Sargassum* sp. (Paraeng et al., 2016).

Menurut Hidayati et al. (2019), *Sargassum* sp. memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, triterpenoid, polifenol, klorofil, karotenoid, dan alkaloid yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. *Sargassum* sp. mengandung alginat, vitamin C, vitamin E, mineral, karotenoid, klorofil, florotanin, polisakarida sulfat, asam lemak, dan asam amino yang memiliki potensi sebagai antioksidan (Gazali et al., 2018). *Sargassum* sp. merupakan salah satu rumput laut penghasil alginat dari proses fotosintesis (Widyartini et al., 2015). Alginat memiliki bioaktivitas sebagai antitumor, antioksidan, antivirus, imunostimulan, antikanker dan antimikroba (Safitri, 2023). Alginat memiliki kelemahan berupa berat molekul yang besar sehingga memengaruhi kelarutannya (Sinurat & Marliani, 2017). Subaryono (2010), menjelaskan bahwa ukuran molekul alginat dapat membatasi penggunaannya, sehingga diperlukannya pemecahan ikatan polimer guna mendegradasi alginat agar lebih mudah dimanfaatkan.

Proses degradasi alginat bertujuan untuk memecah ikatan polimer pada alginat menjadi oligosakarida alginat (OSA) dengan berat molekul lebih rendah (Safitri, 2023). Beberapa metode untuk memecah ikatan polimer menjadi molekul berukuran lebih kecil yaitu dengan cara iradiasi *gamma ray*, hidrolisis dan degradasi enzimatis oleh enzim alginat liase (Nainggolan et al., 2021; Subaryono, 2019; Wang et al., 2017; Wasikiewicz et al., 2005). Degradasi enzimatis lebih efisien karena menghasilkan berat molekul yang seragam tanpa mengubah struktur (Cheng et al., 2020). Proses enzimatis melibatkan bakteri pendegradasi alginat yang menghasilkan enzim alginat liase (Safitri, 2023). Terdapat berbagai jenis bakteri penghasil enzim alginat liase yaitu *Bacillus halosaccharovorans* sLJ-3,

Bacillus megaterium, *Cytobacillus kochi* dan *Bacillus cereus* (Safitri, 2023; Subaryono, 2019; Wang et al., 2017).

OSA memiliki bioaktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan polimer alginat (Subaryono et al., 2017). OSA telah terbukti memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antikanker, antikoagulan, dan antiinflamasi (Falkenberg et al., 2014; Zhou et al., 2015). Pengujian aktivitas antioksidan bertujuan untuk mengetahui karakteristik dan mekanisme kerja antioksidan dalam suatu bahan aktif. Beberapa metode yang digunakan antara lain DPPH (2,2- *diphenyl* -1- *picrylhydrazyl*), ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat), dan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Aryanti et al., 2021). Metode DPPH adalah metode pengujian antioksidan yang paling sering digunakan karena sederhana, cepat dan peka serta hanya membutuhkan sedikit sampel uji (Makrifah, 2017). Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan nilai *Inhibition Concentration* 50 (IC₅₀), yaitu konsentrasi yang mampu meredam aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Semakin rendah nilai IC₅₀ semakin tinggi potensi antioksidan, yang menentukan apakah suatu senyawa tersebut termasuk antioksidan kuat atau lemah (Riwanti et al., 2021). Metode MDA digunakan untuk mengukur tingkat kerusakan lipid akibat stres oksidatif (Dewi et al., 2014).

Sargassum sp. berpotensi sebagai sumber antioksidan karena mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang efektif dalam menangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kemampuan OSA *Sargassum* sp. dalam menangkal radikal bebas menggunakan metode DPPH (2,2- *diphenyl* -1- *picrylhydrazyl*), menentukan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration* 50) sebagai indikator potensi antioksidan serta menganalisis kadar MDA dalam tubuh hewan uji mencit (*Mus musculus*).

1.2 Tujuan Penelitian

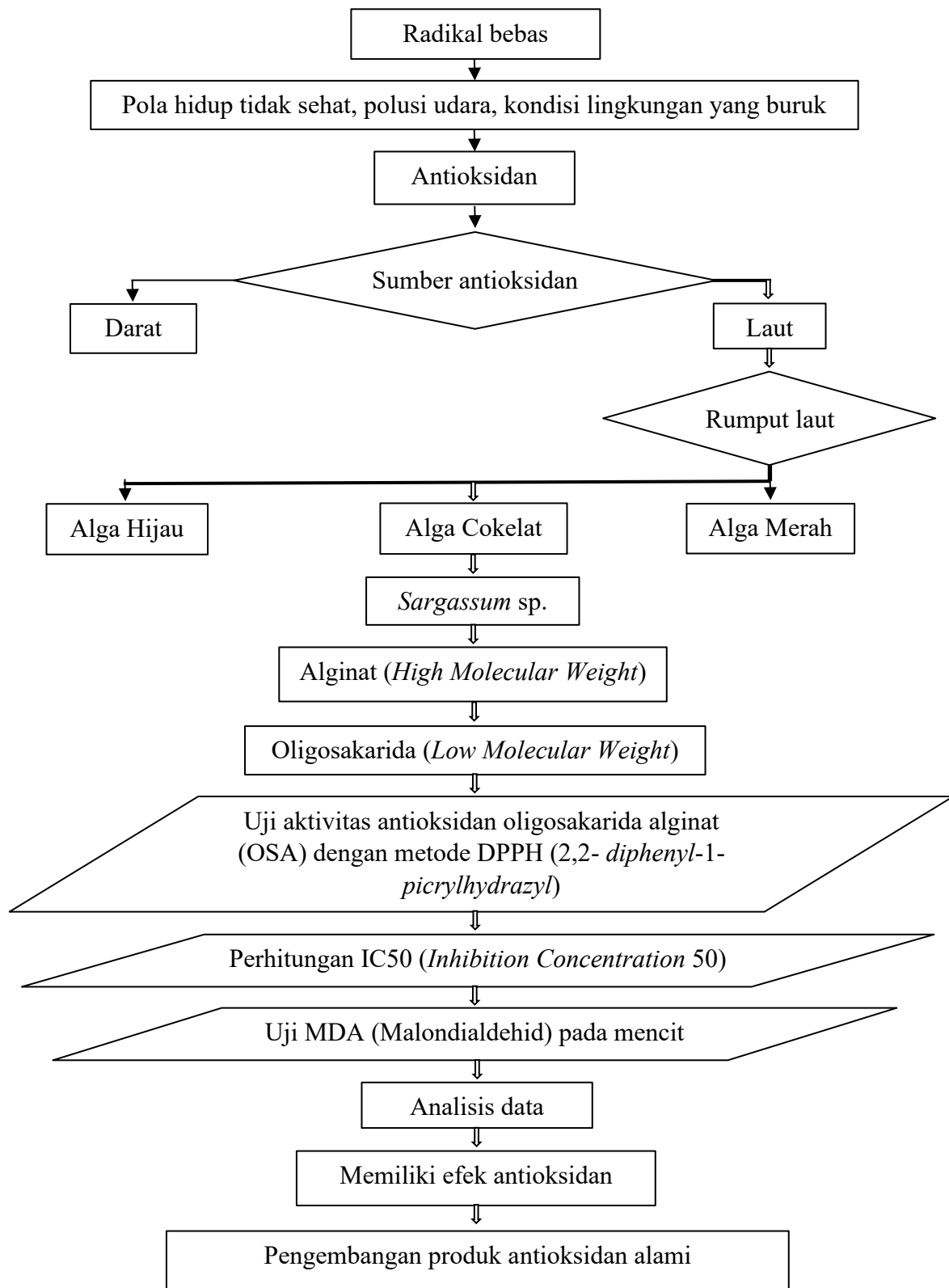
Tujuan dari penelitian adalah untuk menganalisis aktivitas antioksidan, nilai *Inhibition Concentration* 50 (IC₅₀), dan malondialdehid (MDA) pada oligosakarida alginat (OSA) *Sargassum* sp. yang dimediasi oleh bakteri *Bacillus cereus* (PTF) pada hewan uji mencit (*Mus musculus*).

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah untuk memberikan informasi mengenai potensi oligosakarida alginat (OSA) *Sargassum* sp. sebagai sumber bahan alami antioksidan.

1.4 Kerangka Pikir

Polusi udara dan gaya hidup tidak sehat menyebabkan tubuh terpapar dengan senyawa radikal bebas secara terus menerus. Radikal bebas dapat terbentuk akibat pengaruh faktor eksternal seperti asap rokok, paparan sinar ultraviolet, kandungan zat pemicu radikal dalam makanan, serta berbagai polutan lainnya. Beberapa penyakit yang sering dikaitkan dengan keberadaan radikal bebas antara lain serangan jantung, kanker, katarak, dan gangguan fungsi ginjal. Pencegahan penyakit kronis yang disebabkan radikal bebas diperlukannya antioksidan. Banyak bahan alami yang mengandung antioksidan, salah satunya adalah rumput laut, termasuk *Sargassum* sp. *Sargassum* sp. adalah salah satu jenis rumput laut cokelat yang banyak ditemukan di perairan tropis seperti di Indonesia, termasuk di Lampung. Rumput laut mengandung alginat yang mempunyai ikatan polimer yang panjang dan dapat diubah menjadi Oligosakarida alginat (OSA) dengan ikatan polimer yang lebih pendek, oligosakarida yang berasal dari alginat memiliki potensi sebagai antioksidan karena dapat menangkal radikal bebas dan memiliki efek perlindungan terhadap sel-sel tubuh. Pengujian aktivitas antioksidan diperlukan untuk mengetahui efektivitas oligosakarida alginat *Sargassum* sp. dalam melawan radikal bebas. Kerangka pikir disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

Keterangan:

⇒ : yang akan dilakukan pada penelitian

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

H0: $\mu_1 = \mu_2$: Tidak terdapat pengaruh oligosakarida alginat (OSA) *Sargassum* sp. terhadap kadar malondialdehid (MDA) pada mencit.

H1: $\mu_1 \neq \mu_2$: Terdapat pengaruh oligosakarida alginat (OSA) *Sargassum* sp. terhadap kadar malondialdehid (MDA) pada mencit.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Laut *Sargassum* sp.

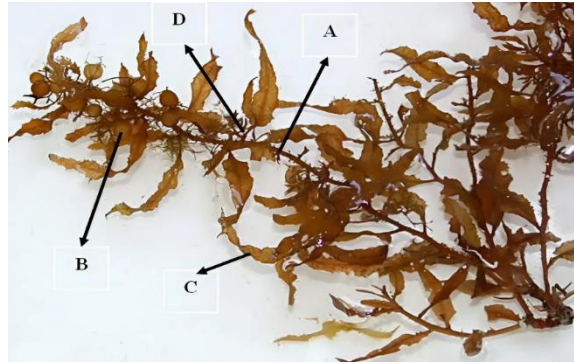
2.1.1 Klasifikasi *Sargassum* sp.

Klasifikasi *Sargassum* sp. menurut Agardh (1820), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Filum	: Phaeophyta
Kelas	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Famili	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Spesies	: <i>Sargassum</i> sp.

2.1.2 *Sargassum* sp.

Sargassum sp. adalah spesies rumput laut yang terdistribusi di seluruh iklim dan lautan tropis dunia. *Sargassum* sp. hidup di perairan dangkal dengan terumbu karang (Dharmayanti et al., 2021). *Sargassum* sp. memiliki 3 kekhasan yaitu adanya pigmen cokelat yang menutupi warna hijau, hasil fotosintesis disimpan dalam bentuk laminaran dan alginat serta adanya flagel (Shams et al., 2015). *Sargassum* sp. umumnya memiliki bentuk *thallus* berbentuk pipih dengan *holdfast* bulat agak kasar menyerupai batang, umumnya berwarna cokelat, bentuk daun melebar, lonjong atau daun di cabang utama berbentuk bulat telur, panjang hingga 12 mm, memiliki *air bladder* berbentuk bulat, *blade* menyerupai daun dan stipe menyerupai tangkai. Komponen utama dari *Sargassum* sp. adalah karbohidrat sedangkan komponen lainnya yaitu viskositas, air dan lemak (Kamisyah et al., 2020). Morfologi *Sargassum* sp. disajikan pada Gambar 2.



Keterangan: (A) *Thallus* (B) *Air bladder* (C) *Blade* (D) *Stipe*
Gambar 2. *Sargassum* sp.

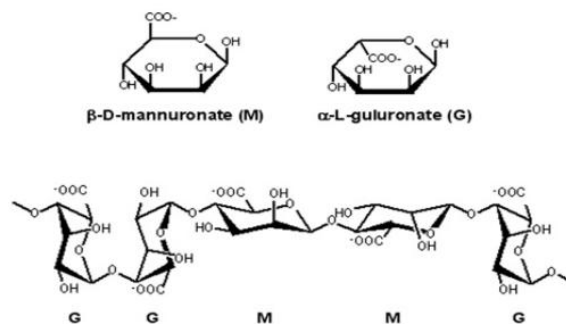
Sumber: Amos, (2016).

Sargassum sp. merupakan salah satu spesies dari alga cokelat (*Phaeophyceae*) yang berpotensi sebagai penghasil alginat. *Sargassum* sp. memiliki kandungan senyawa aktif seperti fenolik, flavonoid, tanin, sterol, terpenoid, saponin, alkaloid, glikosida, vitamin C, vitamin E, mineral, karotenoid, klorofil, florotanin, polisakarida sulfat, asam lemak, dan asam amino (Cardoso et al., 2015; Gazali et al., 2018; Sedjati et al., 2018). *Sargassum* sp. memiliki potensi dalam penyembuhan penyakit kantung kemih, gondok, kolesterol, dapat digunakan sebagai kosmetik dan antioksidan (Gazali et al., 2018). Menurut penelitian Manteu et al. (2018), komposisi kimia rumput laut *Sargassum* sp. terdiri atas kadar air sebesar 17,69%, kadar abu 24,51%, mineral 0,50%, karbohidrat 53,66%, dan serat kasarnya sebesar 3,81%.

2.1.3 Oligosakarida Alginat (OSA)

Alginat memiliki fungsi sebagai zat pengental, pengatur kestabilan, emulsifier, serta pembentuk lapisan tipis yang tahan terhadap minyak. Penggunaannya tidak terbatas pada industri tekstil, tetapi juga meluas ke bidang farmasi, makanan, dan kosmetik (Inem & Wasahua, 2014). Alginat juga merupakan penghasil polisakarida yang merupakan komponen essensial bagi organisme karena memiliki bioaktivitas diantaranya sebagai antitumor, antioksidan, antivirus, imunostimulan, antikanker dan antimikroba (Safitri, 2023). Alginat memiliki sifat biodegradasi karena mampu mengurangi konsentrasi tembaga dalam air melalui mekanisme adsorpsi (Pratama et al., 2022) serta menurunkan kadar ammoniak dengan cara imobilisasi bakteri (Setyawan et al., 2022). Menurut Kamisyah et al. (2020),

aktivitas antioksidan alginat disebabkan oleh gugus hidroksil (-OH) dalam strukturnya. Gugus tersebut berperan dalam menyumbangkan atom hidrogen saat berinteraksi dengan radikal bebas melalui proses transfer elektron, yang kemudian menghambat reaksi oksidasi. Secara struktur kimia, alginat merupakan polimer linier yang tersusun dari dua jenis unit monomer, yaitu asam β -D-mannuronat dan asam α -L-guluronat (Pamungkas et al., 2013). Struktur kimia alginat disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia alginat
Sumber: Winarno, 1990

Alginat merupakan polisakarida yang memiliki senyawa yang kompleks, terbentuk di dinding sel alga cokelat dan berperan penting dalam mempertahankan struktur jaringan alga (Widyartini et al., 2015). Polisakarida biasanya tidak berasa, tidak larut dalam air dan memiliki berat molekul yang tinggi (Sumunar & Estiasih 2015). Alginat memiliki kelemahan berupa berat molekul yang besar yakni 500-1000 kDa sehingga mempengaruhi kelarutannya (Sinurat & Marlioni, 2017). Subaryono (2010) menjelaskan bahwa ukuran molekul alginat dapat membatasi penggunaannya, sehingga diperlukan upaya untuk memecah ikatan polimer guna mendegradasi alginat agar lebih mudah dimanfaatkan. Proses degradasi alginat bertujuan untuk memecah ikatan polimer pada alginat sehingga menghasilkan oligosakarida alginat (OSA) dengan berat molekul lebih rendah (Safitri, 2023). Alginat memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan, dengan aktivitas tertinggi sebesar 75,792% pada konsentrasi 1% (Herawati et al., 2016). Hasil penelitian yang dilakukan Falkerborg et al. (2014) alginat yang telah mengalami depolimerisasi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan alginat sebelum dipolimerisasi. Kamisyah et al. (2020) menyatakan isolat Ca-

alginat dengan konsentrasi 50 ppm memiliki bioaktivitas antioksidan dengan kemampuan inhibisi DPPH sebesar 19,57%.

Oligosakarida alginat (OSA) diperoleh melalui pemutusan ikatan polimer alginat yang dapat dilakukan dengan dua metode utama, yaitu secara enzimatik maupun kimiawi. Metode enzimatik menggunakan enzim alginat liase yang secara spesifik memutus ikatan polimer, sedangkan metode kimiawi meliputi proses hidrolisis asam dan degradasi oksidatif yang lebih umum digunakan (Nainggolan et al., 2021). Pemecahan secara enzimatik lebih disukai karena mampu menghasilkan oligosakarida dengan berat molekul yang seragam dan mempertahankan struktur kimia alginat tanpa perubahan signifikan (Cheng et al., 2020). Proses enzimatik ini biasanya melibatkan bakteri pendegradasi alginat yang berasosiasi dalam hubungan simbiosis mutualisme dengan rumput laut coklat, sehingga memungkinkan degradasi alginat berlangsung secara alami dan efisien (Safitri, 2023). Berbagai jenis bakteri penghasil enzim alginat liase yaitu *Bacillus halosaccharovorans* sLJ-3, *Bacillus megaterium*, *Streptomyces*, serta *Cytobacillus kochii* dan *Bacillus cereus* (Safitri, 2023; Subaryono, 2019; Nguyen et al., 2021; Wang et al., 2017). Produksi OSA dapat dilakukan secara enzimatik yaitu dengan menghidrolisis polimer alginat pada ikatan β -glikosidik sehingga membentuk monomer 4-deoksi-1-eritro-4-hexene-pirosiluronat (Falkenberg et al., 2014). OSA adalah produk turunan alginat yang disintesis dengan proses depolimerisasi, yang akan menghasilkan oligosakarida alginat yang lebih teratur strukturnya karena kerja alginat liase yang spesifik terhadap substrat polimuronat dan poliguluronat (Addina et al., 2020; Subaryono et al., 2017). OSA lebih unggul karena memiliki kelarutan yang lebih baik dalam air dan bioaktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan alginat (Subaryono et al., 2017). OSA telah terbukti memiliki kemampuan sebagai antioksidan, antikanker, antikoagulan, dan antiinflamasi (Falkenberg et al., 2014; Zhou et al., 2015). Menurut penelitian Dewi & Fawzya (2006) produksi kitosan oligosakarida (COs) yang dihidrolisis menggunakan enzim kitosanase bakteri *Bacillus cereus* mempunyai aktivitas sebagai antibakteri yang menyebabkan lisisnya membran sel bakteri.

2.2 Mencit

2.2.1 Klasifikasi Mencit

Klasifikasi Mencit (*Mus musculus*) menurut Zutphen & Bauman (1993):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

2.2.2 Morfologi Mencit

Mencit merupakan hewan omnivora yang dapat mengonsumsi beragam jenis makanan, termasuk biji-bijian, buah-buahan, serangga, dan bahan makanan lainnya. Mencit biasanya memiliki ukuran tubuh antara 7 hingga 10 cm dan mampu hidup selama 1 hingga 3 tahun (Khairani et al., 2024). Sebagai anggota ordo Rodentia, mencit memiliki berbagai keunggulan sebagai hewan percobaan, seperti kemampuan berkembang biak dengan cepat, kemudahan pemeliharaan dalam jumlah besar, serta biaya pemeliharaan yang relatif terjangkau. Selain itu, mencit memiliki variasi genetik yang cukup luas dan karakteristik anatomi serta fisiologi yang telah teridentifikasi dengan baik. Ciri-ciri fisik mencit meliputi rambut yang halus dan lembut, hidung berbentuk kerucut, tubuh yang silindris, serta bulu berwarna putih (Darmawan, 2014).

Perbedaan antara mencit jantan dan betina dapat dikenali melalui keberadaan kantung skrotum yang mengandung testis pada mencit jantan serta jarak antara anus dan alat kelamin luar yang lebih jauh dibandingkan pada mencit betina (Rejeki et al., 2018). Selain itu, mencit betina memiliki lima pasang kelenjar susu dan puting, sementara mencit jantan tidak memilikinya (Mu'nisa et al., 2022). Berat badan mencit jantan dewasa berkisar antara 20 hingga 40 gram, sedangkan mencit betina dewasa memiliki berat antara 25 hingga 40 gram (Rejeki et al., 2018). Hewan uji mencit disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan hewan yang paling banyak digunakan sebagai hewan model laboratorium dengan kisaran penggunaan antara 40-80%. Penggunaan mencit sering digunakan dalam penelitian ilmiah terutama dalam penelitian biologi, genetika, toksikologi, patologi, dan histopatologi. Mencit dan manusia memiliki kesamaan genetik yang signifikan. Lebih dari 90% gen manusia ditemukan dalam genom mencit dan sebagai besar fungsi dari gen tersebut sangat mirip di kedua spesies (Khairani et al., 2024).

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang berfungsi untuk menghambat atau mengurangi dampak negatif dari oksidan dalam tubuh (Ramadhan, 2015). Senyawa ini sangat penting bagi tubuh karena mampu menetralkan radikal bebas serta mencegah kerusakan sel yang berpotensi menimbulkan penyakit degeneratif seperti hipertensi, penyakit jantung, diabetes, stroke, dan kanker (Umboro et al., 2020). Radikal bebas terbentuk dalam tubuh sebagai hasil samping dari oksidasi, pembakaran sel, aktivitas fisik berlebih, peradangan, dan paparan polusi. Jenis radikal bebas utama adalah superoksida, yang diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan kemudian menjadi radikal hidroksil ($\cdot OH$). Radikal hidroksil ini memicu peroksidasi lemak pada membran sel, menyebabkan kerusakan sel dan ketidakseimbangan dengan antioksidan endogen, yang dikenal sebagai stres oksidatif, pada kondisi stres oksidatif ini akan menyebabkan kerusakan sel, jaringan atau organ yang bisa memicu terjadinya penyakit degeneratif (Phaniendra et al., 2015).

Antioksidan dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik adalah senyawa yang dihasilkan melalui proses sintesis, contohnya Butil Hidroksi Anisol

(BHA), tokoferol, propil galat, Butil Hidroksi Toluen (BHT), dan Tertbutil Hidroksi Quinon (TBHQ). Sedangkan antioksidan alami berasal dari ekstraksi bahan alami, terutama senyawa fenolik atau polifenolik seperti flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, dan asam-asam organik polifungsional. Selain flavonoid, senyawa lain yang berfungsi sebagai antioksidan alami meliputi steroid, terpenoid, alkaloid, dan antraquinon (Rachmawanti, 2018). Antioksidan dapat dibedakan menjadi dua jenis berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu sebagai pencegah dan pemutus rantai. Antioksidan pencegah berfungsi dengan cara menghambat terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS), contohnya adalah enzim katalase, peroksidase, superoksida dismutase, dan transferin. Sedangkan antioksidan pemutus rantai bekerja dengan menangkap radikal oksigen dan menghentikan reaksi rantai radikal tersebut, seperti vitamin C, vitamin E, asam urat, dan lainnya (Rachmawanti, 2018). Menurut Nurkhasanah et al. (2023) cara kerja dalam mencegah radikal bebas ada 3 jenis antioksidan yaitu:

1. Antioksidan Primer yaitu antioksidan yang berfungsi menghambat pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi) dengan memutus tali berantai dan mengubah menjadi bentuk yang lebih stabil. Contoh antioksidan primer adalah superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase (GPx).
2. Antioksidan Sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menghambat terjadinya reaksi berantai karena mampu menangkalkan senyawa radikal bebas. Beberapa contoh antioksidan tersebut ialah betakaroten, vitamin E, dan vitamin C.
3. Antioksidan tersier, atau yang dikenal sebagai enzim perbaikan, berperan dalam memperbaiki jaringan tubuh yang rusak akibat radikal bebas. Contoh antioksidan tersier ini meliputi metionin sulfosida reduktase, enzim perbaikan DNA, protease, transferase, serta lipase.

2.4 Pengujian Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan adalah metode yang digunakan untuk menentukan kemampuan suatu senyawa dalam menangkalkan radikal bebas, yang merupakan molekul tidak stabil penyebab kerusakan sel dan jaringan (Maesaroh et al., 2018). Pengujian ini bertujuan untuk mengukur efektivitas antioksidan dalam mendonorkan elektron atau hidrogen untuk menghambat reaksi oksidasi (Rozi et al., 2023). Beberapa metode uji aktivitas antioksidan adalah DPPH (2,2- *diphenyl*

-1- *picrylhydrazyl*) pengujian aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan mengukur kemampuannya dalam menetralkan radikal bebas, yang biasanya ditandai dengan perubahan warna dari ungu tua menjadi kuning. Salah satu metode yang digunakan adalah metode ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat), yang mengukur kemampuan sampel dalam menghasilkan kation radikal ABTS, ditandai dengan perubahan warna dari biru kehijauan menjadi transparan. Selain itu, ada juga metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) yang mengukur kapasitas antioksidan berdasarkan kemampuannya mereduksi ferritripyridyl-triazine (Fe(III)-TPTZ) menjadi kompleks ferotripyridyl-triazine (Fe(II)-TPTZ). Reaksi reduksi ini menghasilkan kompleks berwarna biru, yang menunjukkan keberadaan aktivitas antioksidan pada sampel yang diuji (Aryanti et al., 2021).

Metode DPPH memiliki beberapa keunggulan, antara lain prosedurnya yang sederhana, cepat, sensitif, dan hanya membutuhkan jumlah sampel yang kecil. Metode ini juga mudah diterapkan karena radikal DPPH yang digunakan tergolong stabil jika dibandingkan dengan metode lainnya. Prinsip kerja metode ini didasarkan pada donasi atom hidrogen (H^+) dari senyawa yang diuji kepada radikal DPPH, yang kemudian berubah menjadi senyawa non-radikal difenil pikril hidrazin, yang ditandai dengan perubahan warna (Rahmawati et al., 2015). Salah satu kelemahan metode DPPH adalah radikal DPPH hanya dapat larut dalam pelarut organik (Liaudanskas et al., 2014). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri, senyawa DPPH yang terlarut dalam metanol menghasilkan warna ungu tua dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-517 nm. Saat antioksidan ditambahkan, DPPH akan mengalami reduksi yang ditandai dengan perubahan warna dan penurunan absorbansi. Efektivitas antioksidan dinilai berdasarkan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang mampu mengurangi 50% radikal bebas DPPH. Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan kemampuan antioksidan yang lebih kuat dalam menetralkan radikal bebas, sehingga mencerminkan potensi antioksidan yang lebih tinggi. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm ($IC_{50} < 50$ ppm), kuat berada pada rentang 50-150 ppm ($50 \text{ ppm} \leq IC_{50} \leq 100$ ppm), sedang pada rentang 150-200 ppm ($100 \text{ ppm} \leq IC_{50} \leq 150$ ppm), lemah jika nilai IC_{50} lebih dari 200 ppm ($IC_{50} > 200$ ppm).

ppm), dan sangat lemah jika nilai IC_{50} lebih dari 500 ppm ($IC_{50} > 500$ ppm) (Khotimah et al., 2013).

Malondialdehid (MDA) adalah penanda biologis yang digunakan untuk mengukur tingkat peroksidasi lipid dalam plasma yang merupakan indikator kerusakan oksidatif akibat radikal bebas (Cordiano et al., 2023). Senyawa antioksidan menunjukkan efektivitasnya dalam melindungi lipid membran dari kerusakan oksidatif melalui penurunan kadar MDA plasma. Antioksidan bekerja dengan menetralkan radikal bebas sebelum menyebabkan peroksidasi lipid, sehingga mengurangi pembentukan MDA. Penelitian Yusraeni et al. (2021) telah menunjukkan bahwa pemberian antioksidan seperti madu dapat menurunkan kadar MDA plasma pada kondisi hiperglikemia yang mengindikasikan penurunan stres oksidatif. Infusa biji kopi arabika juga terbukti menurunkan kadar MDA pada tikus *Wistar hiperurisemia* menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda nyata (Dewajanti et al., 2018). Penelitian oleh Zahra et al. (2019) menunjukkan adanya hubungan antara kadar vitamin D dan MDA plasma pada lansia, di mana peningkatan kadar vitamin D terkait dengan penurunan aktivitas peroksidasi lipid yang terlihat dari menurunnya kadar MDA plasma. Pengukuran MDA plasma sering digunakan untuk mengevaluasi potensi perlindungan antioksidan terhadap stres oksidatif dan hubungannya dengan pencegahan kerusakan seluler yang terkait dengan berbagai penyakit degeneratif.

III. METODE PENELITIAN

1.1 Waktu dan Tempat

1.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada November 2024 hingga Februari 2025.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Produktivitas Perairan dan Laboratorium M, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Nama, konsentrasi, merek, dan fungsi/kegunaan bahan penelitian				
No	Nama Bahan	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
1	Media TSA (<i>tryptone soy agar</i>)	500 g	Millipore	Media kultur bakteri.
2	Klorofom	-	Merck	Obat bius hewan uji.
3	Larutan stok DPPH	50 mg	Aldrich	Indikator proses reduksi
4	KCl (<i>potassium chloride</i>)	$\geq 99,5\%$	Repack merck	Bahan pemucatan ekstrak.
5	TCA (Asam trikloroasetat)	20%	Merck	Agen presipitasi protein.
6	TBA (Asam tiobarbiturat)	-	Merck	Reagen utama pengukur MDA (malondialdehid).

Tabel 1. Lanjutan nama, konsentrasi, merek, dan fungsi/kegunaan bahan penelitian

No	Nama Bahan	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
7	Larutan PBS	-	-	Pengencer sel bakteri.
8	Methanol	99,9%	Merck	Pelarut larutan DPPH.
9	Asam asetat glasial	100%	Anugerah chem	Pelarut TBA.
10	Akuades	-	-	Bahan pelarut untuk mencampurkan bahan-bahan kimia.
11	HCl (hydrochloric acid)	-	-	Larutan perendam <i>Sargassum</i> sp.
12	Na ₂ CO ₃ (Soda ash)	-	-	Bahan ekstraksi alginat.
13	NaOH (Soda api)	-	-	Bahan penetralisir pH larutan.
14	<i>Bacillus cereus</i>	-	-	Bakteri hidrolisis.
15	<i>Sargassum</i> sp.	-	-	Bahan baku penghasil alginat.
16	Mencit	-	-	Hewan percobaan.
17	Serbuk kayu	-	-	Alas kendang.
18	Pakan pelet	-	Rat bio	Sumber nutrisi mencit.

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Nama, konsentrasi, merek, fungsi/kegunaan alat penelitian

No	Nama Alat	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
1	<i>Yellow tip</i>	100µl	Onemed	Mengambil sampel larutan dengan volume sampai dengan 200 µl.
2	<i>Blue tip</i>	1000 µl	Onemed	Mengambil sampel larutan dengan volume sampai dengan 1000 µl.
3	Kuvet	-	-	Pengukur konsentrasi reagen yang dibaca pada spektrofotometer.
4	Tabung corning	15 ml	Onemed	Wadah sampel pada proses sentrifugasi.
5	Cawan petri	15 cm	Labotiq	Wadah kultur bakteri.
6	<i>Microplate</i>	96 hole	-	Alat untuk menganalisa bahan uji.
7	Tabung reaksi	-	-	Wadah kultur bakteri cair.

Tabel 2. Lanjutan nama, konsentrasi, merek, fungsi/kegunaan alat penelitian

No	Nama Alat	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
8	Rak tabung reaksi	-	-	Menyimpan atau menata beberapa tabung reaksi.
9	Mikropipet	100-1000 μ l	Dlab	Memindahkan larutan.
10	<i>Beaker glass</i>	-	-	Wadah sampel atau bahan sementara.
11	Gelas ukur	100 ml	Onemed	Wadah ukur larutan.
12	Timbangan digital	0,0001 gr	Sojikyō	Penimbang bahan.
13	Vortex	-	Dlab	Menghomogenkan larutan.
14	<i>Hotplate</i>	-	Dlab	Menghomogenkan larutan.
15	<i>Centrifuge</i>	-	800-1 Centrifugal Machine	Memisahkan komponen berdasarkan massa jenisnya.
16	Spektrofotometer	-	B- One	Pengukur absorbansi uji.
17	<i>Shaker</i>	-	Kang jian medical apparatus	Menghomogenkan larutan.
18	<i>Waterbath</i>	10-100°C	Stuart water bath	Menjaga suhu air yang konstan.
19	Autoklaf	206 kPa	GEA	Sterilisasi alat dan bahan penelitian.
20	Spuit 1cc	1 ml	Onemed	Pengambilan darah hewan uji.
21	pH meter	0-14 ppm	Muramaru	Pengukur derajat keasaman larutan.
22	Termometer	-10- 110°C	Tlab	Pengukur suhu.
23	Sarung tangan	-	Onemed	Pelindungi tangan dari bahan kimia berbahaya dan mengurangi risiko kontaminasi.
24	Botol minum hewan uji	60 ml	Drinking bottle	Wadah penampung air minum mencit.
25	Kertas label	-	-	Penanda bahan.
26	Peralatan aerasi	-	-	Sumber oksigen dalam air.
27	Kain blacu	-	-	Penyaring <i>Sargassum</i> sp. yang sudah diekstraksi.
28	Plastik <i>wrap</i>	-	Klinpak	Penyegelan alat.
29	Aluminium foil	-	Klinpak	Penutup alat saat sterilisasi.

Tabel 2. Lanjutan nama, konsentrasi, merek, fungsi/kegunaan alat penelitian

No	Nama Alat	Konsentrasi	Merek	Fungsi/Kegunaan
30	Saringan	-	-	Pemisahkan serbuk alginat.
31	Botol vial	10 ml	-	Tempat penyimpanan ekstrak.
32	Blender	2L	Philips	Menghaluskan <i>Sargassum</i> sp.
33	<i>Litter box</i>	Size L	Package	Wadah pemeliharaan mencit.
34	Akuarium	2L	-	Wadah inkubasi oligosakarida alginat (OSA).
35	Kompas gas	-	-	Sumber api saat ekstraksi <i>Sargassum</i> sp.
36	Panci perebusan 40 L	40 L	-	Wadah merebus <i>Sargassum</i> sp.
37	Ember	-	-	Wadah ekstrak <i>Sargassum</i> sp.
38	Grinder	-	-	Menghaluskan <i>Sargassum</i> sp.
39	Oven	-	-	Pengeringan alginat <i>Sargassum</i> sp.

3.3 Rancangan percobaan

Penelitian yang dilakukan mencakup uji aktivitas antioksidan oligosakarida alginat (OSA) dengan metode DPPH (2,2- *diphenyl* -1- *picrylhydrazyl*) dan perhitungan IC_{50} (*Inhibition concentration*) serta uji kadar malondialdehid (MDA) plasma darah mencit. Metode pengujian aktivitas antioksidan yang digunakan adalah metode DPPH pada panjang gelombang 517 nm dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Pengujian aktivitas antioksidan menguji 2 sampel perlakuan yaitu alginat *Sargassum* sp. dan oligosakarida alginat (OSA) *Sargassum* sp. Pengujian kadar MDA plasma darah mencit dilakukan selama 7 hari menggunakan metode rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan.

Perlakuan yang digunakan:

- P1 : Tanpa penambahan (0 ml) oligosakarida alginat *Sargassum* sp. pada 1 kg pakan (Kontrol)
- P2 : Penambahan 100 ml oligosakarida alginat *Sargassum* sp. pada 1 kg pakan

- P3 : Penambahan 200 ml oligosakarida alginat *Sargassum* sp. pada 1 kg pakan
- P4 : Penambahan 300 ml oligosakarida alginat *Sargassum* sp. pada 1 kg pakan
- P5 : Penambahan 400 ml oligosakarida alginat *Sargassum* sp. pada 1 kg pakan

Model rancangan acak lengkap pada penelitian ini sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu_i + \tau_i + \varepsilon_{ij} \text{ atau } Y_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Pengamatan pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Rataan umum

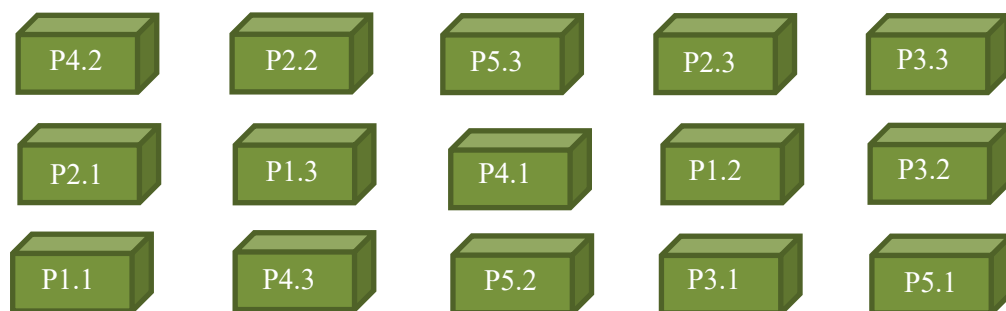
i = Perlakuan

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

j = Ulangan

ε_{ij} = Pengaruh acak pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Susunan rancangan penelitian disajikan pada gambar 5



Gambar 5. Susunan rancangan penelitian

Keterangan:

P1.1, P1.2, dan P1.3 : Perlakuan P1 (kontrol) dan 1, 2, 3 merupakan ulangan

P2.1, P2.2, dan P2.3 : Perlakuan P2 dan 1, 2, 3 merupakan ulangan

P3.1, P3.2, dan P3.3 : Perlakuan P3 dan 1, 2, 3 merupakan ulangan

P4.1, P4.2, dan P4.3 : Perlakuan P4 dan 1, 2, 3 merupakan ulangan

P5.1, P5.2, dan P5.3 : Perlakuan P5 dan 1, 2, 3 merupakan ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Sampel

Sampel *Sargassum* sp. didapatkan dari perairan Lampung yaitu Kecamatan Bengkunt, Kabupaten Pesisir Barat. Sampel *Sargassum* sp. yang didapatkan di-

simpan didalam karung untuk dibawa preparasi di laboratorium, di laboratorium sampel *Sargassum* sp. dicuci bersih dengan air mengalir, dikeringkan dengan bantuan panas matahari selama satu hari, dilanjutkan dengan pengeringan dengan oven pada suhu 40°C sampai *Sargassum* sp. kering hingga bisa dihaluskan menjadi serbuk simplisia menggunakan blender, untuk dilanjutkan tahap ekstraksi.

3.4.2 Ekstraksi *Sargassum* sp.

Sargassum sp. halus ditimbang dan direndam dengan larutan HCl 1% dengan perbandingan antara HCl 1% dengan *Sargassum* sp. adalah 1:2 selama 60 menit. Setelah 60 menit, *Sargassum* sp. ditiriskan serta dibilas dengan air bersih. Dilakukan ekstraksi menggunakan larutan soda ash (Na_2CO_3) 2% dengan cara perebusan pada suhu 60°C selama 60 menit. Air dari hasil perebusan diambil kemudian disaring dengan kain blacu, air yang telah didapatkan ditambahkan 0,13 M KCl dan didiamkan selama 30 menit, lalu ditambahkan HCl 10% hingga pH 2-3 dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu dinetralisasi dengan menambahkan larutan soda api (NaOH) sampai pH 7-8. Ekstrak dapat disimpan didalam wadah tertutup.

3.4.3 Pembuatan Oligosakarida Alginat (OSA)

Pembuatan oligosakarida alginat (OSA) dilakukan dengan cara mencampurkan 1 L alginat hasil ekstraksi dengan 10 ml bakteri *Bacillus cereus* pada akuarium berkapasitas 15 L yang diberi aerasi dan diinkubasi selama 72 jam, setelah 72 jam oligosakarida alginat disimpan pada botol vial.

3.4.4 Pembuatan Stok Larutan DPPH

Pembuatan stok larutan DPPH dilakukan dengan cara menimbang serbuk DPPH sebanyak 2 mg dan ditambahkan 10 ml metanol murni lalu diinkubasi selama 30 menit pada ruangan gelap. Stok larutan DPPH disimpan pada wadah tertutup.

3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Larutan uji berupa ekstrak oligosakarida alginat (OSA) *Sargassum* sebanyak 200 µL ditambahkan 50 µL stok larutan DPPH dimasukkan dalam *microplate*. *Microplate* berisi larutan uji didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang 20-25°C di dalam ruang gelap. Diukur nilai absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan persentase hambatan yang didapat dari nilai absorbansi sampel. Kemampuan menangkap radikal bebas (inhibisi) dihitung dengan rumus berikut ini:

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

3.4.6 Perhitungan IC₅₀

Perhitungan *Inhibition Concentration* (IC₅₀) adalah nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier konsentrasi sampel sebagai (sumbu x) dan persen antioksidan sebagai (sumbu y) sehingga $y = bx + a$ (Molyneux, 2004).

3.4.7 Uji Kadar MDA Plasma Darah

Pengukuran kadar MDA dalam plasma darah mencit dilakukan dengan menggunakan metode TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) yang telah dimodifikasi sesuai kebutuhan, seperti yang dijelaskan oleh Momuat (2011).

- a. Sebanyak 60 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok P1 sebanyak 4 ekor, kelompok P2 sebanyak 4 ekor, kelompok P3 sebanyak 4 ekor, kelompok P4 sebanyak 4 ekor, dan kelompok P5 sebanyak 4 ekor.
- b. Sebelum analisis kadar MDA dilakukan, mencit terlebih dahulu diadaptasikan dalam kondisi laboratorium selama 7 hari dengan pemberian pakan tanpa tambahan OSA.
- c. Sebelum pengambilan darah, mencit dipuasakan selama satu malam. Mencit dianestesi dengan diberikan kloroform pada kapas yang diletakkan di wadah pemeliharaan, dilakukan pengambilan darah dengan menggunakan spuit 1cc ke jantung hewan uji mencit dan aspirasi secara perlahan. Darah yang telah diambil simpan dalam *microtube* dan disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm

- selama 10 menit. Plasma darah yang terletak pada bagian atas dipisahkan dan diambil untuk dianalisis konsentrasi MDAnya.
- d. Pada hari kedelapan, dilakukan pengambilan darah terhadap seluruh mencit untuk penentuan kadar MDA sebagai *pretest*. Pengambilan darah dilakukan dengan menusukkan jarum suntuk ke jantung dan aspirasi perlahan. Darah ditampung didalam *microtube* yang telah diberi EDTA untuk tujuan pengambilan plasma darah.
 - e. Mencit diistirahatkan satu hari, pada hari kesepuluh mencit dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu P1, P2, P3, P4, dan P5. Untuk diberikan pakan perlakuan secara oral.
 - f. Pada hari keempat belas seluruh kelompok mencit diberi aktivitas fisik maksimal dengan cara direnangkan hingga hampir tenggelam (kurang lebih selama 30 menit) untuk meningkatkan stres oksidatif dan dilanjutkan dengan pengambilan darah sebagai *posttest* untuk pemeriksaan MDA.
 - g. Pengukuran konsentrasi sampel percobaan dilakukan dengan prosedur yang sama seperti pada larutan standar. Sebanyak 100 μ L plasma darah dicampur dengan 0,5 ml TCA 20% dan 1,0 ml TBA 1% dalam larutan asam asetat glasial 50%, kemudian diinkubasi selama 45 menit pada suhu 95°C sebelum didinginkan. Selanjutnya, larutan tersebut disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 1000 rpm. Supernatan hasil sentrifugasi kemudian dipisahkan dan kadar absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.

3.4.8 Analisis Data

Data aktivitas antioksidan dan *Inhibition Concentration* 50 (IC₅₀) akan dianalisis secara kualitatif, dan data malondialdehid (MDA) dianalisis secara kuantitatif. Metode analisis yang digunakan analisis varians (ANOVA) untuk mengevaluasi pengaruh pemberian oligosakarida alginat (OSA) *Sargassum* sp. terhadap hewan uji. Selanjutnya, dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) guna menentukan konsentrasi OSA yang paling efektif ketika diaplikasikan sebagai antioksidan.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Oligosakarida alginat (OSA) *Sargassum* sp. yang dimediasi oleh bakteri *Bacillus cereus* (PTF) memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah, ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ sebesar 1041 ppm, namun lebih baik dibandingkan alginat *Sargassum* sp. dengan nilai IC₅₀ sebesar 2557 ppm. Pada uji *in vivo*, pemberian OSA menunjukkan kecenderungan menurunkan kadar MDA plasma darah hewan uji mencit, tetapi penurunan tersebut tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

5.2 Saran

Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan dan uji *in vivo* lebih lanjut. Uji aktivitas antioksidan lanjut untuk memastikan mekanisme aktivitas antioksidan dari OSA dengan metode ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) atau FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Uji *in vivo* lebih lanjut diperlukan untuk mengkonfirmasi mekanisme biologis kerja OSA sebagai proteksi stres oksidatif serta perlu optimasi metode degradasi alginat untuk dapat menghasilkan OSA dengan berat molekul dan struktur yang spesifik untuk efektifitas dan efisiensi pengaplikasiannya.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abaza, L., Youssef, N. B., Manai, H., Haddada, F. M., Methenni, K., & Zarrouk, M. (2011). Chetoui olive leaf extract: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities. *Grasas Y Aceites*, 62(1), 96-104.
- Addina, S., Subaryono., & Sukarno. (2020). Aktivitas oligosakarida alginat sebagai antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 15(1): 33sa45.
<http://dx.doi.org/10.15578/jpbkp.v15i1.646>
- Agardh, C. A. (1820). *Species algarum rite cognite, cum synonymis, differentiis specificis et descriptionibus succinctis*. Lund: Ex officina Berlingiana.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.45326>
- Aliahmat, N. S., Noor, M. R. M., Yusof, W. J. W., Makpol, S., Ngah, W. Z. W., & Yusof, Y. A. M. (2012). Antioxidant enzyme activity and malondialdehyde levels can be modulated by *Piper betle*, tocotrienol rich fraction and *Chlorella vulgaris* in aging C57BL/6 mice. *Clinics (Sao Paulo)*, 67(12), 1447–1454. [https://doi.org/10.6061/clinics/2012\(12\)16](https://doi.org/10.6061/clinics/2012(12)16)
- Amin, S., & Assafa, Z. (2025). Peran senyawa polifenol dalam mekanisme antioksidan : Tinjauan dari aspek kimia medisinal. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan*, 3(2): 882-832. <https://doi.org/10.31004/jiik.v3i2.44456>
- Amos, M. C. C. (2016). Pengaruh penambahan medium provassoli's enriched seawater (PES) terhadap kadar kolin yang dihasilkan makroalga coklat *Sargassum* sp. (No Publikasi 11294) [Skripsi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta]. Repository Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. (2021). Telaah metode pengujian aktivitas antioksidan pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 15-24.
<https://doi.org/10.33084/jsm.v7i1.2024>
- Ayala, A., Munoz, M. F., & Arguelles, S. (2014). Lipid peroxidation : Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1: 360438. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>

- Cardoso, M. S., Pereira, O. R., Seca, A. M. I., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2015). Seaweeds as preventive agents for cardiovascular diseases: From nutrients to functional foods. *Marine Drugs*, 1(13), 6838-6865. <https://doi.org/10.3390/md13116838>
- Cheng, D., Jiang, C., Xu, J., Liu, Z., & Mao, X. (2020). Characteristics and applications of alginate lyases: A review. *Journal Biology Macromol*, 164, 1304-1320. 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.199
- Cordiano, R., Giocchino, M. D., Mangifesta, R., Panzera, C., Gangemi, S., & Minciullo, P. L. (2023). Malondialdehyde as potential oxidative stress marker for allergy-oriented diseases: An update. *Molecules*, 28(16): 5979. DOI: 10.3390/molecules28165979.
- Darmawan, R. (2014). Uji aktivitas antiplasmodium ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens*) terhadap mencit jantan (*Mus musculus*) serta implementasinya sebagai LKS pada materi protista. (No Publikasi 8373) [Skripsi, Universitas Bengkulu]. Perpustakaan Universitas Bengkulu.
- Dewajanti, A. M., Sumbayak, E. M., & Neno, M. A. (2018). Uji aktivitas antioksidan infusa biji kopi arabika (*Coffea arabica L.*): Pengukuran kadar malondialdehid (MDA) pada tikus wistar (*Rattus novergicus*) Hiperurisemia. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 24(68): 28-35. <https://doi.org/10.36452/jkdoktmeditek.v24i68.1699>
- Dewi. A. S., & Fawzya, Y. N. (2006). Kitosan oligosakarida: Produksi dan potensinya sebagai antibakteri. *Squalen*, 1(1), 29-33 <https://doi.org/10.15578/squalen.75>
- Dewi, N. W. O. A. C., Puspawati, N. M., Swantara, I. M. D., Asih, I. A. R. A., & Rita, W. S. (2014). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid ekstrak etanol biji terong belanda (*Solanum betaceum, syn*) dalam menghambat reaksi peroksida lemak pada plasma darah tikus wistar. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 2(1), 7-16.
- Dharmayanti, N., Mufida, N., Permadi, A., Asriani., Salampessy, R. B., Nurbani, Z. S., & Indriati, N. (2021). Penambahan konsentrasi alginate dari *Sargassum polycystum* untuk formulasi krim lulur. *Jurnal Akuatek*, 2(2), 81-94. <https://doi.org/10.24198/akuatek.v2i2>
- Fakriah., Kurniasih, E., Adriana., & Rusydi. (2019). Sosialisasi bahaya radikal bebas dan fungsi antioksidan alami bagi kesehatan. *Jurnal Hasil-Hasil Penerapan IPTEKS dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(1), 1-7. 10.30811/vokasi.v3i1.960
- Falkeborg, M., Cheong, L. Z., Gianfico, C., Sztukiel, K. M., Kristensen, K., Glasius, M., & Guo, Z. (2014). Alginate oligosaccharides: Enzymatic

- preparation and antioxidant property evaluation. *Food Chemistry*, 164, 185-194. 10.1016/j.foodchem.2014.05.053
- Gazali, M., Nurjanah, N., & Zamani, N. P. (2018). Eksplorasi senyawa bioaktif alga cokelat *Sargassum* sp. Agardh sebagai antioksidan dari Pesisir Barat Aceh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 167-178. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i1.21543>
- Herawati, D., Lydia, N. L., & Silvia, A. (2016). Pengaruh konsentrasi alginat dan CaCl_2 terhadap kadar antosianin, aktivitas antioksidan dan karakteristik sensoris buah duwet (*Syzygium cummi* Linn.) restrukturisasi. *AGRITECH*, 36(3), 261-269. <https://doi.org/10.22146/agritech.16588>
- Hidayati, J. R., Yudiati, E., Pringgenies, D., Arifin, Z., & Oktaviyanti, D. T. (2019). Total phenolic compound and pigment contents of tropical *Sargassum* sp. extract, macerated in different solvents polarity. *Jurnal Kelautan Tropis*, 22(1), 73-80. <https://doi.org/10.14710/jkt.v22i1.4404>
- Inem, O., & Wasahua, J. (2014). Jenis-jenis alga coklat potensial di Perairan Pantai Desa Hutumuri Pulau Ambon. *Jurnal Ilmiah Agribisnis dan Perikanan*, 7(2), 39-45. 10.29239/j.agrikan.7.2.39-45
- Jacoeb, A. M., Suptijah, P., & Zahidah, M. (2013). Komposisi kimia, komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan buah lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(1), 86-94. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v16i1.7772>
- Kamisyah, S., Sapar, A., Briliantoro, R., & Sayekti, E. (2020). Isolasi dan karakterisasi alginat dari rumput laut (*Sargassum polycystum*) asal perairan Singkawang Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(3), 62-71. <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/42395>
- Kamoda, A. P. M. D., Nindatu, M., Kusadhiani, I., Astuty, E., Rahawarin, H., & Asmin, E. (2021). Uji aktivitas antioksidan alga cokelat *Sargassum* sp. dengan metode 1,1- difenil-2-pikrihidrasil (DPPH). *PAMERI Pattimura Medical Review*, 3(1), 60-72. <https://doi.org/10.30598/pamerivol3issue1page60-72>
- Khairani, D., Ilyas, S., & Yurnadi. (2024). *Prinsip dan praktik hewan percobaan mencit (Mus musculus)*. USU Press.
- Khairunnisa, N. (2017). Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun zaitun (*Olea europaea* L.) menggunakan pelarut air dengan metode DPPH. (No Publikasi 37362) [Skripsi, UIN Syarif Hidayatullah]. Institutional Repository UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Khotimah, K., Darius, B. B., & Sasmito. (2013). Uji aktivitas senyawa aktif alga coklat (*Sargassum fillipendulla*) sebagai antioksidan pada minyak ikan

- Lemuru (*Sardinella longiceps*). *Jurnal Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan*, 1(1), 10-20.
- Liaudanskas, M., Viskelis, P., Raudonis, R., Kviklys, D., Uselis, N., & Janulis, V. (2014). Phenolic composition and antioxidant activity of *Malus domestica* leaves. *The Scientific World Journal*. 14(3), 1-10. 10.1155/2014/306217
- Maesaroh, K., Kurnia, D., & Anshori, J. A. (2018). Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6(2), 93-100. <https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.19049>
- Makrifah, S. K. (2017). Potensi ekstrak rumput laut *Sargassum cristaefolium* sebagai kandidat antioksidan untuk menangkal efek radikal bebas di perairan. (No Publikasi 221) [Skripsi, Universitas Brawijaya]. Repository UB
- Manteu, S. H., Nurjanah., & Nurhayati, T. (2018). Karakteristik rumput laut cokelat (*Sargassum* sp. dan *Padina minor*) dari Perairan Pohuwato Provinsi Gorontalo. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 396-405. 10.17844/jphpi.v21i3.24709
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26(2), 211-219. <https://www.thaiscience.info/journals/article/song/10462423.pdf>
- Momuat, L. I., Sangi, M. S., & Purwati, N. P. (2011). Pengaruh VCO mengandung ekstrak wortel terhadap peroksidasi lipid plasma. *Jurnal Ilmiah Sains*, 11(2), 296-301. <https://doi.org/10.35799/jis.11.2.2011.222>
- Mu'nisa., Jumadi, O., Junda, M., Wiharto, M., & Hamjaya, P. H. (2022). *Teknik manajemen dan pengolahan hewan percobaan: Memahami perawatan dan kesejahteraan hewan percobaan*. Jurusan Biologi FMIPA UNM.
- Nainggolan, N., Seprianto, S., & Kusumawati, R. (2021). Synthesis of alginate oligosaccharide (AOS) using different solvents. *Indonesia Journal Biotechnology Biodiversity*, 5(1), 78-83. <https://doi.org/10.47007/ijobb.v5i3.98>
- Nguyen, T. N. T., Chataway, T., Araujo, R., Puri, M., & Franco, C. M. M. (2021). Purification and characterization of a novel alginate lyase from a marine *Streptomyces* species isolated from seaweed. *Marine Drugs*, 19(590), 1-15. <https://doi.org/10.3390/md19110590>
- Nurkhasanah., Bachri, M. S., & Yuliani, S. (2023). *Antioksidan dan stres oksidatif*. UAD Press.

- Pamungkas, T. A., Ridlo, A., & Sunaryo. (2013). Pengaruh suhu ekstraksi terhadap kualitas natrium alginat rumput laut *Sargassum* sp. *Journal Of Marine Research*, 2(3): 78-84. <https://doi.org/10.14710/jmr.v2i3.3135>
- Paraeng, P., Mantiri, D. M. H., & Rumengan, A. (2016). Uji aktivitas antioksidan pada makro alga cokelat *Hydroclathrus clathratus* (c. Agardh) hower dan *Padina minor* yamada. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 2(1), 37-43. <https://doi.org/10.35800/jplt.4.2.2016.14082>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), 11-26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Pratama, B. S., Hambali, E., Yani, M., & Matsue, N. (2022). Pemanfaatan film alginat dan alginat montmorillonite sebagai adsorben CU (II). *Jurnal Sains Dasar*, 11(2), 70-77. 10.21831/jsd.V11i2.51544
- Rachmawanti, R. (2018). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol akar pletekan (*Reullia tuberosa* L.) dan pengaruhnya terhadap kadar malondialdehid pada pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi MLD-STZ. (No Publikasi 168697) [Skripsi, Universitas Brawijaya]. Repository UB.
- Rahmawati., Muflihunna, A., & Sarif, L. M. (2015). Analisis aktivitas antioksidan produk sirup buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 97-101. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2.177>
- Ramadhan, P. (2015). *Mengenal antioksidan*. Graha Ilmu.
- Rejeki, P. S., Putri, E. A. C., & Prasetya, R. E. (2018). *Ovariektomi pada tikus dan mencit*. Airlangga University Press.
- Riskiana, N. P. Y., & Vifta, R. L. (2021). Kajian pengaruh pelarut terhadap aktivitas antioksidan alga cokelat genus *Sargassum* dengan metode DPPH. *Journal of Holistics and Health Sciences*, 3(2), 201-213. <https://doi.org/10.35473/jhhs.v3i2.80>
- Riwanti, P., Kusuma, A., & Andayani, R. (2021). Aktivitas antioksidan ekstrak 96% *Sargassum polycystum* metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi dan Kesehatan Indonesia*, 1(2), 33-39.
- Rozi, F., Siddiq, M. N. A. A., & Majiding, C. M. (2023). Analisis kapasitas antioksidan minuman sumber vitamin C. *Jurnal Kesehatan Tambusai*. 4(4), 6105-6111. <https://doi.org/10.31004/jkt.v4i4.21855>

- Safitri, Y. B. (2023). Studi bakteri simbiosis *Sargassum* sp. penghasil enzim alginat lyase dari perairan Lampung: penapisan, karakterisasi dan indentifikasi. (No Publikasi 69462) [Tesis, Universitas Lampung]. Digital Repository Unila.
- Sarlin, L.O., Haslianti., & Rejeki, S. (2021). Karakteristik kimia dan uji aktivitas antioksidan rumput laut (*Sargassum* sp.) yang diperoleh dari Kecamatan Wangi-Wangi dan Kecamatan Wangi-Wangi Selatan Kabupaten Wakatobi. *Jurnal Fish Protech*, 4(1), 44-53. <http://dx.doi.org/10.33772/jfp.v4i1.18142>
- Sasmita, V., Ridhay, A., & Hardi, Y. S. (2019). Potensi antioksidan metabolit sekunder fraksi etil asetat dari kulit batang eboni (*Diospyros celebica* Bakh.). *KOVALEN*, 5(2), 155-165. 10.22487/kovalen.2019.v5.i2.11642
- Sedjati, S., Supriyanti, E., Ridlo, A., Soenardjo, N., & Santi, V. Y. (2018). Kandungan pigmen, total fenolik dan aktivitas antioksidan *Sargassum* sp. *Jurnal Kelautan Tropis*, 21(2), 137-144. <https://doi.org/10.14710/jkt.v21i2.3329>
- Setyawan, A., Supono., Wijayanti, A., & Anti, U. T. (2022). Effectiveness of using of brown alginate to immobilize the indigenous bioremediation for reducing waste from shrimp culture. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1027 (1), 1-8. 10.1088/17551315/1027/1/012010
- Shams, M., Afsharzadeh, S., & Balali, G. H. (2015). Taxonomic study of six *Sargassum* species (*Sargassaceae*, *Fucales*) with compressed primary branches in the Persian Gulf and Oman Sea including *S. binderi* sonder a new record species for algal flora, Iran. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*, 26(1), 7-16. https://jscienc.es.ut.ac.ir/article_53212.html
- Sinurat, E., & Marlioni, R. (2017). Karakteristik natrium alginat dari rumput laut cokelat *Sargassum crassifolium* dengan perbedaan alat penyaring. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 351-361. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18103>
- Subaryono, P. R. (2010). Modifikasi alginat dan pemanfaatan produknya. *Squalen*, 5(1), 1-7.
- Subaryono, P. R., Suhartono, M. T., & Zakaria, F. R. (2017). Aktivitas imunomodulator oligosakarida alginat (OSA) yang dihasilkan dari alginat asal *Sargassum crassifolium*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 63-73.
- Subaryono. (2019). Produksi enzimatis oligosakarida alginat (OSA) dari rumput laut *Sargassum crassifolium* dan aktivitas imunomodulatornya. (No Publikasi 648) [Disertasi, Institut Pertanian Bogor]. IPB Repository

- Sumunar, S. R & Estiasih, T. (2015). Umbi gadung (*Dioscorea hispida* Dennst) sebagai bahan pangan mengandung senyawa bioaktif : Kajian pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(1): 108-112.
<https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/115/132>
- Umboro, R. O., Bimmaharyanto, D. E. S., & Yanti, N. K. W. (2020). Uji efektivitas antioksidan (IC50) dan toksisitas akut (LD50) fraksi etanol daun nangka (*Artocarpus Heterophyllus* Lam). *JUPE: Jurnal Pendidikan Mandala*, 5(6), 187-196. <http://dx.doi.org/10.58258/jupe.v5i6.2349>
- Wang, M., Chen, L., Zhang, Z., Wang, X., Qin, S., & Yan, P. (2017). Screening of alginate lyase-excreting microorganisms from the surface of brown algae. *AMB Express*, 7(74), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0361-x>
- Wasikiewicz, J. M., Yoshii, F., Nagasawa, N., Wach, R. A., & Mitomo, H. (2005). Degradation of chitosan and sodium alginate by gamma radiation, sonochemical and ultraviolet methods. *Radiation Physics and Chemistry*, 73(5), 287-295. 10.1016/j.radphyschem.2004.09.021
- Widyartini, D. S., Insan, A. I., & Sulistyani. (2015). Kandungan alginat *Sargassum* sp. pada metode budidaya dan umur tanam berbeda. *Biosfera*, 32(2), 119-125. 10.20884/1.mib.2015.32.2.303
- Winarno, F.G. (1990). *Teknologi pengolahan rumput laut*. Pustaka Sinar Harapan.
- Yateem, H., Afaneh, I., & Al-Rimawi, F. (2014). Optimum conditions for oleuropein in extraction from olive leaves. *International Journal of Applied Science and Technology*, 4(5), 153-157.
- Yenrina, R., & Sayuti, K. (2015). *Antioksidan alami dan sintetik*. Andalas University Press. <http://repository.unand.ac.id/id/eprint/23714>
- Yusraeni, R., Rasfayanah., Arfah, A. I., Hapsari, P., Makmun, A., Rusman., & Latief, R. (2021). Efektivitas madu terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA) plasma sebagai penanda stress oksidatif pada kondisi hyperglikemi. *Fakumi Medical Journal : Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 1(2): 137-143.
<https://doi.org/10.33096/fmj.v1i2.152>
- Zahra, N., Johan, A., Ngestiningsih, D. (2019). Hubungan antara kadar vitamin D dengan kadar malondialdehid (MDA) plasma pada lansia. *Jurnal Kedokteran Diponegoro (Diponegoro Medical Journal)*, 8(1): 333-342.
<https://doi.org/10.14710/dmj.v8i1.23348>
- Zhou, R., Shi, X., Gao, Y., Cai, N., Jiang, Z., & Xu, X. (2015). Anti-inflammatory activity of guluronate oligosaccharides obtained by oxidate degradation from alginate in lipopolysaccharide-activated murine macrophage RAW 264.7 cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 63, 160-168. 10.1021/jf503548a

Zaetun, S., Kusuma, D. L. B., & Wiyadna, R. I B., (2019). Profil kadar MDA (malondialdehyde) sebagai penanda kerusakan seluler akibat radikal bebas pada tikus yang diberikan air beroksigen. *Jurnal Analisis Media Bio Sains*, 4(2), 63-68. <https://doi.org/10.32807/jambs.v4i2.87>

Zutphen, V., & Bauman. A. (1993). *Principles of laboratory animal science*. Elsevier.