

## PENGARUH RADIASI SINAR ULTRAVIOLET DAN PEMBERIAN PAKAN EKSTRAK RUMPUT LAUT MERAH (*Eucheuma sp.*) TERHADAP SINTASAN LALAT BUAH (*Drosophila melanogaster*)

Dina Anggraini<sup>1\*)</sup>, Ignatius Sudaryadi<sup>2)</sup>

<sup>1\*)</sup>E-mail: [dinaanggraini21@mail.ugm.ac.id](mailto:dinaanggraini21@mail.ugm.ac.id)

<sup>2)</sup>E-mail: [dsudaryadi@ugm.ac.id](mailto:dsudaryadi@ugm.ac.id)

<sup>1)2)</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

### ABSTRACT

Long term ultraviolet exposure causes oxidative stress due to excess formation of Reactive Oxygen Species (ROS). Consuming food with high antioxidant content such as vegetables, fruits, and algae, is one of the best way to reduce ROS. *Eucheuma sp.* is macroalgae that has potential as the source of antioxidant because it contains various bioactive compound. Fruit fly (*Drosophila melanogaster*) is versatile model organism. Its complex anatomical, physiological, and organ system has similarity with human. The aim of this research were to determine the effect of UV radiation on *Drosophila melanogaster*'s survival on each life stage, to determine bioactive compound in methanolic extract of *Eucheuma sp.* analyzed by GC/MS, and to determine the effect of feeding medium *Eucheuma sp.* extract and banana fruit on fruit fly's survival. Each fruit fly group was given different treatment, non-exposed to UV and exposed to UV within 2 hours for 3 days, fed on *Eucheuma sp.* extract and banana feed medium. Data were statistical analyzed by One Way Anova and Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). The result showed that UV radiation was capable to affect the survival of larvae, pupae, and imago. Survival rate result of *Drosophila melanogaster* were 24,9% (PPI), 18,5% (PPIUV), 18% (PRL), and 38% (PRLUV).

**Keywords:** Antioxidant; *Drosophila melanogaster*; *Eucheuma sp.*; ROS; Ultraviolet radiation

### ABSTRAK

Paparan sinar ultraviolet (UV) dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan stress oksidatif akibat terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) secara berlebihan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menangkal ROS adalah dengan mengonsumsi makanan kaya antioksidan seperti sayur, buah, dan alga. *Eucheuma sp.* merupakan makroalga yang berpotensi sebagai sumber antioksidan karena mengandung beragam senyawa bioaktif. Lalat buah (*Drosophila melanogaster*) merupakan organisme model untuk mempelajari berbagai disiplin ilmu karena memiliki anatomi, fisiologi, dan sistem organ yang sangat kompleks seperti manusia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh radiasi sinar UV terhadap sintasan lalat buah pada tiap fase kehidupannya, mengidentifikasi senyawa bioaktif *Eucheuma sp.* dengan metode *Gas Chromatography/Mass Spectrometry* (GC/MS) pelarut metanol, serta mengetahui kemampuan proteksi yang dihasilkan pakan ekstrak *Eucheuma sp.* dan pakan pisang terhadap sintasan lalat buah. Tiap kelompok lalat buah diberi perlakuan yang berbeda, yaitu perlakuan tanpa paparan dan dengan paparan sinar UV selama 2 jam dalam 3 hari, serta perlakuan pakan ekstrak *Eucheuma sp.* dan pakan standar pisang. Data dianalisis dengan uji One way Anova dan uji lanjutan Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa radiasi sinar UV dapat mempengaruhi sintasan lalat buah pada fase larva, pupa, dan imago. Nilai kemampuan sintasan tiap perlakuan yaitu 24,9% (PPI), 5,9% (PPIUV), 2,7%

(PRL), dan 4,0% (PRLUV).

**Kata Kunci:** Antioksidan; *Drosophila melanogaster*; *Eucheuma* sp.; ROS; sinar Ultraviolet

## PENDAHULUAN

Sinar Ultraviolet (UV) merupakan salah satu bentuk radiasi yang dihasilkan oleh matahari. Radiasi tersebut dipancarkan dalam bentuk gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang 100 – 400 nm (Brennan & Fedor, 1988). Paparan sinar UV secara berlebihan dan dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan kerusakan pada sel dan jaringan tubuh secara langsung dan tidak langsung. Kerusakan secara langsung terjadi ketika paparan sinar UV dapat merusak struktur DNA secara langsung sehingga mengalami mutasi. Sedangkan kerusakan secara tidak langsung terjadi ketika adanya interaksi antara *UV Chromophore* (DNA, lipid, dan asam amino) dengan Sinar UV sehingga terjadi transfer elektron ke O<sub>2</sub> dan menyebabkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS).

ROS merupakan molekul radikal bebas yang mana apabila jumlahnya berlebih dapat menyebabkan terhambatnya proses transkripsi dan replikasi DNA, berhentinya siklus sel, kerusakan struktur dan fungsi makromolekul tubuh, bahkan kematian pada sel (Tuieng, Cartmell, Kirwan, & Sherratt, 2021). Berdasarkan tempat produksinya, ROS dapat dibedakan menjadi dua yaitu ROS Endogenous (diproduksi sel tubuh) dan ROS Eksogenous (diinduksi dari luar tubuh). ROS Endogenous umumnya dihasilkan dari proses respirasi sel (Rantai Transport Elektron) di dalam mitokondria. Sedangkan ROS Eksogenous terjadi akibat adanya paparan sinar UV (de Jager, Cockrell, & Du Plessis, 2017)

Tubuh setiap organisme memiliki mekanisme khusus yang dapat menangkal radikal bebas termasuk ROS. Namun apabila ROS yang ada di dalam tubuh jumlahnya berlebih, maka mekanisme penangkal radikal bebas tersebut tidak dapat bekerja secara efektif sehingga terjadilah stress oksidatif (Karthi, Sankari, & Shivakumar, 2014). Stress oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara zat antioksidan di dalam tubuh dengan molekul radikal bebas (ROS) yang diproduksi dalam jumlah berlebih. Stress oksidatif dapat terjadi akibat paparan sinar UV yang dihasilkan matahari dalam jangka waktu yang lama. Salah satu bahaya dari stress oksidatif adalah kerusakan DNA makhluk hidup sehingga aktivitas sel seperti transkripsi DNA, replikasi DNA, dan siklus sel menjadi terhambat (de Jager et al., 2017; Tuieng et al., 2021). Upaya yang dapat dilakukan untuk menghambat stress oksidatif adalah dengan memakan makanan mengandung zat antioksidan seperti buah, sayur, ataupun bahan lainnya (Ellong, Billard, Adenet, & Rochefort, 2015).

*Eucheuma* sp. merupakan salah satu jenis rumput laut merah (Rhodophyta) yang berpotensi sebagai sumber antioksidan. *Eucheuma* sp. mengandung beberapa senyawa bioaktif seperti *Natural pigments*, Vitamin C, Vitamin E, Lignan, Flavonoid, alkaloid, senyawa fenolik, *Carrageenan* dan lain sebagainya. Senyawa bioaktif tersebut berpotensi menangkal radikal bebas yang dihasilkan oleh sinar Ultraviolet (Prasasty et al., 2019). Diketahui juga bahwa senyawa bioaktif dalam *Eucheuma* sp. memiliki fungsi lain yaitu sebagai antibakteri, antivirus, antifungal, *antiaging*, dan pencegah penyakit degeneratif contohnya kanker (Muawanah, Ahmad, & Natsir, 2016; Prasasty et al., 2019; Sambodo, 2019).

Pada penelitian ini digunakan lalat buah (*Drosophila melanogaster*) sebagai hewan uji. *Drosophila melanogaster* merupakan organisme model untuk mempelajari berbagai disiplin ilmu. Hal ini dikarenakan lalat buah memiliki anatomi, fisiologi, dan sistem organ yang kompleks seperti manusia. Selain itu, lalat buah juga memiliki kemiripan genom sebesar 60% dengan manusia (Mirzoyan et al., 2019). Hal inilah yang menyebabkan lalat buah umum digunakan sebagai organisme model di bidang biomedis. Kelebihan lainnya adalah lalat buah memiliki siklus hidup cepat, mudah didapat, mudah dikulturkan, biaya perawatannya murah, mekanisme pertahanan diri yang kuat, dan sangat sensitif dengan perubahan lingkungan sehingga perubahan fenotipenya dapat diamati secara langsung (Jennings, 2011; Ma, Yang, Wang, & Dai, 2019).

Pada penelitian yang dilakukan oleh (Kusumawati & Sudaryadi, 2022) dapat diketahui bahwa paparan sinar UV dapat menyebabkan perubahan ukuran ovarium lalat buah betina menjadi lebih kecil. Selain itu pemberian pakan dengan tambahan ekstrak kiwi (sumber antioksidan) dapat memproteksi tubuh lalat buah dari kerusakan akibat paparan radiasi sinar UV. Oleh karena itu dilakukanlah penelitian ini untuk mengetahui pengaruh radiasi sinar UV terhadap sintasan lalat buah pada tiap fase kehidupannya, mengidentifikasi senyawa bioaktif pada *Eucheuma* sp. Dengan metode *Gas Chromatography/Mass Spectrometry* (GC/MS) pelarut metanol, serta mengetahui kemampuan proteksi yang dihasilkan pakan ekstrak *Eucheuma* sp. dan pakan pisang terhadap sintasan lalat buah. Adapun manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi ilmiah terkait kemampuan proteksi sinar UV yang dihasilkan oleh senyawa bioaktif yang terkandung di dalam *Eucheuma* sp. dan pengaruhnya terhadap sintasan *Drosophila melanogaster*.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang melibatkan *Drosophila melanogaster* sebagai hewan uji, pakan pisang sebagai pakan kontrol, pakan pisang dengan tambahan ekstrak *Eucheuma* sp. sebagai pakan perlakuan, dan pemaparan sinar radiasi UV pada

beberapa kelompok perlakuan. Adapun alat yang digunakan yaitu botol jar kaca, botol flakon, pinset, kertas saring, autoclave, dan kotak kayu berukuran 100x50x50 cm berisi lampu UV yang tertutup. Adapun bahan yang dikuanakan adalah buah pisang ambon, tape singkong, Natrium benzoate, rumput laut merah (*Eucheuma* sp.), dan methanol.

### **Rearing lalat buah**

Satu botol kultur Lalat buah (*Drosophila melanogaster*) diperoleh dari Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Kultur kemudian diperbanyak dalam 10 botol jar steril yang berisi pakan pisang. Kultur tersebut menjadi kultur awal lalat buah.

### **Isolasi Lalat buah jantan dan betina *Virgin***

Lalat buah jantan dan betina *virgin* didapat dengan cara mengisolasi pupa yang berasal dari kultur awal. Satu persatu pupa dimasukkan kedalam botol flakon yang sudah disterilkan dengan autoclave dan diberi sedikit pakan tape singkong. Pupa tersebut dipelihara hingga menjadi imago. Tiap imago *disexing* dengan cara melihat morfologinya. Isolasi lalat buah di dalam flakon bertujuan untuk mendapatkan lalat buah *virgin* dan diasumsikan berada dalam umur yang sama.

### **Pengkulturan *Drosophila melanogaster***

Pengkulturan *Drosophila melanogaster* mengacu pada metode yang dikembangkan oleh (Chiang & Hodson, 1950) yaitu dengan mengkulturkan lalat buah pada wadah yang tidak terlalu besar untuk memudahkan *handling* meski kepadatan populasi tinggi, efektif dalam penggunaan ruang, dan meminimalisir kontaminasi pada pakan. Dilakukan juga sterilisasi pada alat – alat yang digunakan dengan menggunakan autoclave untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Medium pakan standar dibuat dengan cara mencampurkan pisang ambon dan tape singkong dengan perbandingan (6 : 1). Pada medium juga ditambahkan dengan natrium benzoat sebanyak 1 g/kg sebagai zat antijamur. kemudian ketiga bahan tersebut diblender hingga homogen. Untuk pembuatan pakan perlakuan ekstrak *Eucheuma* sp. dilakukan dengan cara berikut : Mula mula *Eucheuma* dicuci dengan air bersih sebanyak 3 kali untuk menghilangkan garam pada permukaannya. Kemudian *Eucheuma* sp. direndam dengan air bersih selama 2 x 24 jam. *Eucheuma* sp. basah dicampurkan ke dalam medium pakan standar pisang dengan perbandingan *Eucheuma* sp. : pisang (3 : 1). Semua bahan diblender hingga homogen. Selanjutnya sebanyak 6 botol jar steril diisi dengan medium pakan standar dan 6 botol jar lainnya diisi dengan medium pakan ekstrak *Eucheuma* sp. Tiap botol diisi dengan 25 gram medium pakan. Lalu sebanyak 2 pasang lalat buah *virgin* dimasukkan kedalam botol perlakuan.

### **Perlakuan radiasi sinar UV**

Perlakuan ini dilakukan di ruang rearing Laboratorium Entomologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Pada penelitian ini terdapat 4 perlakuan yaitu : Perlakuan medium pakan pisang tanpa paparan sinar UV (PPI), Perlakuan medium pakan pisang dengan paparan sinar UV (PPIUV), perlakuan medium pakan yang ditambah ekstrak *Eucheuma* sp. tanpa paparan sinar UV(PRL), dan perlakuan pakan yang ditambah ekstrak *Eucheuma* sp. dengan paparan sinar UV (PRLUV). Masing masing perlakuan terdiri dari 3 kali pengulangan (3 botol). Perlakuan paparan sinar UV dilakukan dengan menggunakan set UV. Paparan sinar UV dilakukan selama 2 jam/hari mulai dari jam 12.00 – 14.00 WIB. Penyinaran dilakukan selama 3 hari berturut-turut setelah lalat buah virgin dipasangkan. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap sintasan lalat buah pada fase larva, pupa, dan imago generasi F1. Dilakukan juga pengamatan jenis kelamin pada fase imago untuk mengetahui rasio *sex*-nya. Data yang diperoleh dari sintasan *Drosophila melanogaster* pada tiap fase kehidupan dianalisis dengan rumus (Kusumawati & Sudaryadi, 2022) :

$$\text{Sintasan} = \frac{\text{Jumlah imago}}{\text{jumlah larva}} \times 100\%$$

$$\text{Penekanan sinar UV} = 100\% - \text{sintasan}$$

### **Uji kadar vitamin C**

Pengujian kadar Vitamin C dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Adapun metode yang digunakan adalah titrasi Yodium atau Metode Jacobs. Adapun tahapannya sebagai berikut: filtrat *Eucheuma* sp. dan buah pisang ambon ditambahkan dengan indikator amilum 1% sebanyak 2 mL. Kemudian dititrasi dengan larutan standar Iodium 0,01 N hingga terjadi perubahan warna. Perhitungan kadar vitamin C yaitu 1 mL Larutan Iodium 0,01 N setara dengan 0,88 mg asam askorbat.

### **Identifikasi senyawa bioaktif *Eucheuma* sp. dengan Metode GC/MS**

Identifikasi senyawa boaktif *Eucheuma* sp. mengacu pada jurnal (Maheswari, Reena, & Sivaraj C., 2017). Tahapan awal yang dilakukan adalah preparasi sampel. Sampel *Eucheuma* sp. yang telah dibersihkan dan direndam dengan air bersih dipotong dengan ukuran 1 – 2 cm. Kemudian rumput laut dikeringkan dengan menggunakan oven selama 2 x 24 jam pada suhu 40°C. Selanjutnya rumput laut dihaluskan hingga menjadi serbuk. Serbuk rumput laut disimpan dalam wadah kedap udara dan pada suhu ruang. Kemudian serbuk rumput laut *Eucheuma* sp. diserahkan kepada LPPT-UGM untuk dilakukan pengujian senyawa bioaktif dengan metode GC/MS pelarut metanol. Hasil berupa kromatogram dengan beberapa puncak yang mewakili satu jenis senyawa bioaktif.

## Analisis Hasil

Data sintasan fase larva, pupa, imago dan rasio *sex Drosophila melanogaster* dianalisis dengan menggunakan uji *One Way Anova* serta uji lanjutan Tukey HSD dan Duncan. Sedangkan kadar Vitamin C pada medium pakan dianalisis dengan menggunakan uji t-test. Semua data statistik dihitung dengan signifikansi  $P \leq 0,05$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Sintasan lalat pada tiap fase perkembangannya

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata individu sintasan lalat buah pada fase larva, pupa, dan imago yang disajikan dalam bentuk tabel berikut ini :

Tabel 1. Rerata individu sintasan lalat buah pada fase larva, pupa, dan imago tiap perlakuan uji

Fase	Perlakuan			
	PPI	PPIUV	PRL	PRLUV
Larva	135,67 ± 22,85 <sup>b</sup>	50,00 ± 23,64 <sup>a</sup>	22,00 ± 7,00 <sup>a</sup>	17,00 ± 7,55 <sup>a</sup>
Pupa	49,67 ± 9,45 <sup>b</sup>	13,67 ± 8,33 <sup>a</sup>	10,67 ± 2,52 <sup>a</sup>	7,67 ± 0,58 <sup>a</sup>
Imago	32,67 ± 7,02 <sup>b</sup>	8,33 ± 4,16 <sup>a</sup>	3,67 ± 1,15 <sup>a</sup>	5,33 ± 1,15 <sup>a</sup>

Ket : \*) Huruf yang berbeda pada masing-masing baris menunjukkan terdapat beda nyata yang signifikan terhadap taraf signifikansi 0,05

Hasil pada (tabel 1) menunjukkan bahwa rerata individu larva, pupa, dan imago pada perlakuan PPI jumlahnya lebih banyak dan perbedaan nyata bila dibandingkan dengan perlakuan PPIUV, PRL, dan PRLUV. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan paparan sinar UV dan pemberian ekstrak *Eucheuma* sp. ada pakan dapat menyebabkan perbedaan rerata jumlah individu sintasan lalat buah.

Berdasarkan perbandingan antara perlakuan PPI dengan PPIUV serta PRL dengan PRLUV, dapat diketahui bahwa perlakuan paparan sinar UV mengakibatkan rerata individu yang diberi perlakuan UV lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan tanpa paparan sinar UV. Hal ini menunjukkan bahwa paparan sinar UV dapat mempengaruhi dan menekan jumlah sintasan lalat buah pada fase larva, pupa, dan imago. Sinar UV dapat menyebabkan stress oksidatif akibat pembentukan ROS yang berlebih. ROS yang berlebih menyebabkan kerusakan sel lalat buah sehingga terjadi penurunan kemampuan bertahan hidup (sintasan) lalat buah (Gong, 2009).

Dari (tabel 1) juga dapat diketahui bahwa rerata sintasan individu lalat buah dengan perlakuan pakan yang ditambah ekstrak *Eucheuma* sp. lebih rendah dibandingkan perlakuan pakan buah pisang. Hal ini diasumsikan bahwa nutrisi yang terkandung dalam pakan yang ditambah

ekstrak *Eucheuma* sp. tidaklah sebanyak dan sebaik pakan pisang. Hal ini diduga terjadi akibat tiga faktor utama, yang pertama senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan pada *Eucheuma* sp. tidak lebih kuat efektivitasnya dibandingkan dengan asam askorbat (Vitamin C) sehingga senyawa bioaktif tersebut tidak dapat menghalau ROS yang dihasilkan oleh tubuh (endogenous) maupun ROS akibat paparan sinar UV (Eksogenous) (Muawanah et al., 2016). Akibatnya terjadilah stress oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel dan bahkan kematian pada serangga (de Jager et al., 2017; Saucedo, Sánchez Rodríguez, Aréchiga Flores, Bañuelos Valenzuela, & López Luna, 2019).

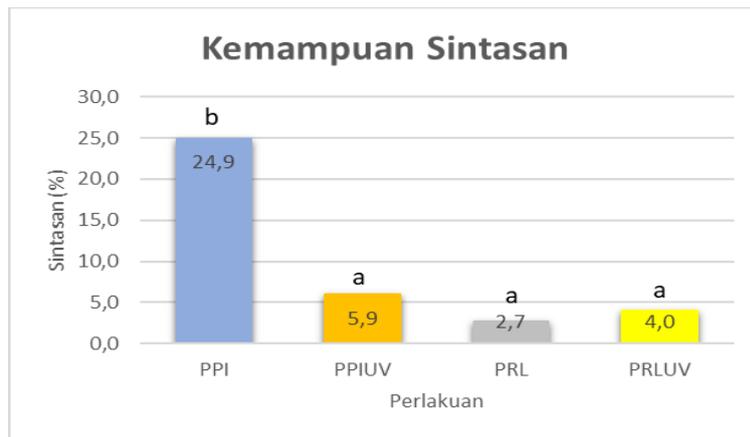
Faktor yang kedua adalah sebagian senyawa bioaktif pada *Eucheuma* sp. juga berpotensi sebagai antimikroba. Zat antimikroba tersebut dapat membunuh mikroba berupa bakteri dan khamir yang berada di medium pakan. Dimana seperti yang dijelaskan oleh (Grenier & Leulier, 2020) mikroba yang ada pada pakan merupakan sumber nutrisi tambahan yang dibutuhkan oleh larva *Drosophila* untuk tumbuh dan berkembang. Berkurangnya sumber nutrisi pada pakan, baik secara kualitas maupun kuantitas, dapat mempengaruhi sintasan serangga (Araújo, Gil, & E-Silva, 2012).

Faktor yang ketiga adalah tekstur pakan, dimana pakan yang ditambah dengan ekstrak *Eucheuma* sp. memiliki taktur lebih padat dibandingkan dengan pakan pisang (Kontrol). Larva merupakan fase makan pada siklus kehidupan serangga. Tiap serangga memiliki perilaku makan yang berbeda-beda. Larva lalat buah memiliki perilaku makan yaitu *surfacing, dig and dive* (mencari dipermukaan, menggali dan berenang dalam makanannya) (Kim, Alvarez, Lechuga, & Louis, 2017). Larva lalat buah menyukai makanan dengan taktur lembut, tidak terlalu padat ataupun berair. Tekstur pakan dengan tambahan ekstrak *Eucheuma* sp. yang terlalu padat, menyebabkan larva mati akibat kesulitan bernapas ketika sedang menggali dan memakan makanannya. Hal ini menyebabkan individu pada perlakuan pakan *Eucheuma* sp. jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan pakan pisang.

Selain itu penurunan rerata sintasan individu dari fase larva menuju fase pupa yang signifikan disebabkan karena lalat buah memiliki pola kurva bertahan hidup (*Survivorship curve*) tipe III, dimana tingkat mortalitas pada fase kehidupan awalnya (larva) lebih tinggi dibandingkan dengan fase kehidupan setelahnya (Schowalter, 2006).

### **Kemampuan sintasan lalat buah pada berbagai perlakuan uji**

Dari data rerata sintasan lalat buah pada tiap fase kehidupannya, maka dapat ditentukan presentase kemampuan sintasan lalat buah tiap perlakuan uji yang disajikan dalam bentuk diagram berikut :



Gambar 1. Kemampuan sintasan lalat buah pada fase imago

Gambar 1 menunjukkan diagram kemampuan sintasan lalat buah pada fase imago dengan berbagai perlakuan uji yaitu perlakuan pakan pisang control (PPI), perlakuan pakan dan paparan radiasi UV (PPIUV), pakan dengan ekstrak *Eucheuma* sp. (PRL), dan pakan dengan ekstrak *Eucheuma* sp. dan paparan radiasi UV (PRLUV). Dari gambar tersebut dapat diketahui bahwa PPI memiliki kemampuan sintasan sebesar 24,9%, PPIUV sebesar 5,9%, PRL sebesar 2,7%, dan PRLUV sebesar 4,0%.

Berdasarkan gambar 1, dapat diketahui bahwa perlakuan PPI memiliki kemampuan sintasan 19% lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan PPIUV. Hal ini membuktikan bahwa perlakuan paparan sinar UV dapat menurunkan kemampuan sintasan lalat buah. Paparan sinar UV dapat menginduksi terbentuknya ROS Eksogenous yang berlebih sehingga tumbuh tidak mampu untuk menangkal senyawa radikal tersebut. Akibatnya terjadilah stress oksidatif yang dapat mempengaruhi kemampuan sintasan lalat buah untuk bertahan hidup.

Dari gambar 1 juga dapat diketahui bahwa perlakuan PRLUV mengalami penekanan sinar UV 1,9% lebih besar dibandingkan dengan perlakuan PPIUV. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa bioaktif pada *Eucheuma* sp. tidak cukup efektif untuk menangkal radikal bebas ROS, baik yang diproduksi dalam tubuh (ROS Endogenous) maupun ROS yang diproduksi akibat induksi sinar UV (ROS Eksogenous). Selain itu, adanya zat antimikroba pada pakan dengan tambahan ekstrak *Eucheuma* sp. menyebabkan mikroba yang berguna sebagai nutrisi tambahan mati. Sehingga menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan larva lalat buah menjadi terhambat dan hal tersebut menyebabkan kemampuan sintasan lalat buah menurun.

Hal unik terjadi pada perlakuan PRLUV dimana memiliki kemampuan sintasan 1,3% lebih tinggi dibandingkan perlakuan PRL. Hal tersebut terjadi akibat adanya efek non spesifik dari paparan radiasi dosis rendah sehingga terjadi respon radioadaptif dari individu yang diberi paparan radiasi sinar UV (Alatas, 2011).

### Rasio jenis kelamin pada berbagai perlakuan uji

Rasio jenis kelamin (*sex ratio*) adalah perbandingan antara jumlah individu jantan dengan jumlah individu betina di dalam suatu populasi. Manfaat perhitungan rasio jenis kelamin diantaranya adalah sebagai informasi dan cerminan bagaimana kondisi suatu populasi pada zaman dahulu, kondisi pada saat ini, dan prediksi kondisi populasi di masa yang akan datang (Fauzi, Ramadani, & Sukmawati, 2017). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan rerata rasio lalat buah jantan dan betina dengan berbagai perlakuan sebagai berikut :

Tabel 2. Rerata rasio jantan dan betina lalat buah pada tiap perlakuan uji

Perlakuan	Rasio Jantan dan Betina (J/B)
PPI (Kontrol)	$0,29 \pm 0,13^a$
PPIUV	$0,32 \pm 0,79^a$
PRL	$0,20 \pm 0,17^a$
PRLUV	$1,00 \pm 1,32^a$

Ket : \*) Huruf yang berbeda pada masing-masing baris menunjukkan terdapat beda nyata yang signifikan terhadap taraf signifikansi 0,05

Berdasarkan (tabel 2.) Dapat diketahui bahwa rasio jantan dan betina perlakuan PPI Kontrol sebesar  $0,29 \pm 0,13$ , rasio jantan dan betina perlakuan PPIUV sebesar  $0,32 \pm 0,79$ , rasio jantan dan betina perlakuan PRL sebesar  $0,20 \pm 0,17$ , dan rasio jantan dan betina PRLUV sebesar  $1,00 \pm 1,32$ . Hasil uji statistik program SPSS dengan analisis menggunakan One way Anova dan uji lanjutan Duncan, menunjukkan bahwa rasio jenis kelamin dari 4 perlakuan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 0,05.

Rasio jenis kelamin pada serangga umumnya 1:1, namun terdapat beberapa faktor lingkungan yang dapat menyebabkan rasio jantan dan betina menjadi berbeda, seperti : suhu, intensitas cahaya, paparan radiasi sinar UV, ataupun gelombang EMF (Fauzi et al., 2017). Selain itu berdasarkan penelitian oleh (Bezerra Da Silva, Park, Blood, & Walton, 2019), dapat diketahui bahwa rasio jenis kelamin bergantung pada densitas populasi. Dimana semakin besar populasinya, maka semakin menurun rasio jenis kelaminnya. Berdasarkan teori alokasi jenis kelamin (*sex allocation theory*) menyebutkan bahwa induk betina dapat memanipulasi rasio jenis kelamin anaknya berdasarkan kemampuan relatif (*Relative fitness*) dan kesuksesan reproduksi (*Reproductive success*) dari anakan jantan dan betinanya (Long & Pischedda, 2005). Hal tersebut dapat terjadi karena lalat buah betina memiliki organ reproduksi khusus yaitu spermatheca yang berfungsi untuk menyimpan sperma hingga sel telur siap untuk dibuahi (Chapman, 2013).

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, dapat dilihat bahwa rasio jenis kelamin pada perlakuan PPI Kontrol, PPIUV, dan PRL cenderung memiliki anakan betina lebih banyak dibandingkan dengan anakan jantan. Hal ini dikarenakan anakan betina dianggap memiliki kesuksesan reproduksi

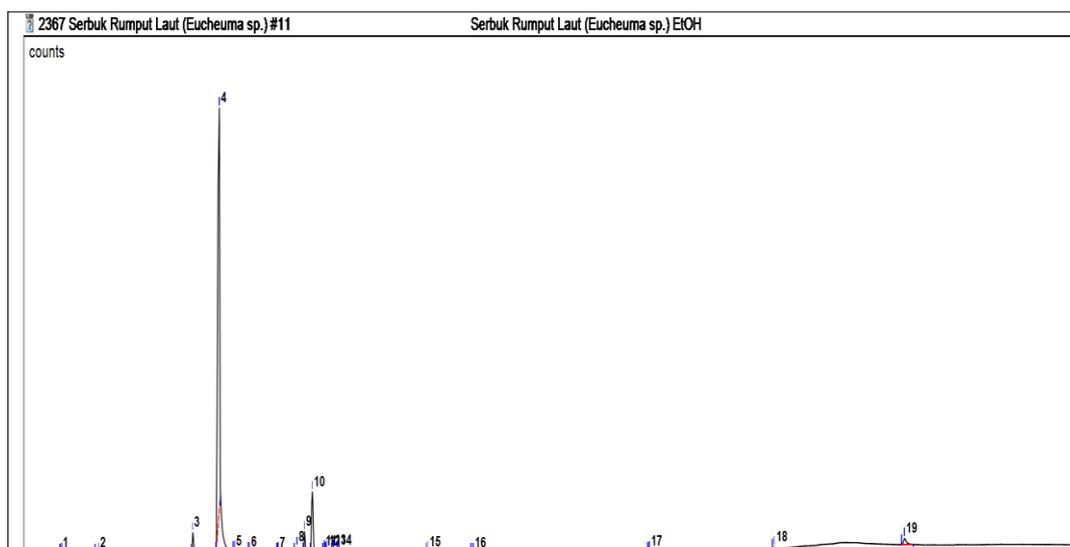
lebih tinggi dibandingkan dengan jantan (Long & Pischedda, 2005). Manipulasi rasio jenis kelamin juga dipengaruhi oleh kualitas dari induk jantan. Induk jantan dengan kualitas baik, akan menghasilkan anakan jantan lebih banyak atau setara dengan betina. Sedangkan induk jantan berkualitas buruk akan menghasilkan anakan betina lebih banyak dibandingkan jantan.

Pada perlakuan PPI dapat diasumsikan bahwa rasio jenis kelamin ditentukan oleh densitas populasi karena populasi F1 yang dihasilkan banyak sehingga dapat menurunkan rasio jenis kelamin. Sedangkan pada perlakuan PPIUV rasio jenis kelamin ditentukan oleh dua faktor yaitu densitas populasi dan juga kualitas indukan jantan. Diasumsikan bahwa kualitas indukan jantan perlakuan PPIUV menurun diakibatkan karena adanya paparan sinar UV sehingga produksi sperma dengan kromosom Y berkurang. Pada perlakuan PRL, rasio jenis kelamin ditentukan oleh kualitas indukan jantan yang kurang baik sehingga menghasilkan anakan betina lebih banyak dibandingkan dengan jantan. Dan pada perlakuan PRLUV rasio jenis kelamin ditentukan dari densitas populasinya, dimana densitas populasi F1 yang sedikit menyebabkan rasio jenis kelaminnya antara anakan jantan dan betina setara.

### **Pengaruh kandungan senyawa bioaktif pada *Eucheuma* sp. dan buah pisang (*Musa x paradisiaca* L.) pada hasil perlakuan**

Senyawa bioaktif adalah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman, mikroba, dan fungi. Senyawa tersebut memiliki efek farmakologis atau toksikologis terhadap manusia dan hewan. Senyawa bioaktif memiliki beragam potensi yang dapat dimanfaatkan manusia, diantaranya adalah meningkatkan imunitas, mencegah penyakit degeneratif akibat metabolisme abnormal, sebagai zat antioksidan, antiinflamasi, antimikroba, antikanker, antiaging, dan lain sebagainya (Pai, Hebbar, & Selvaraj, 2022).

*Eucheuma* sp termasuk makroalga yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif. Untuk mengidentifikasi berbagai senyawa bioaktif tersebut maka dilakukan metode pemisahan kimia dengan menggunakan alat GC/MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*). GC/MS dikenal sebagai metode paling efektif untuk mengidentifikasi senyawa organik dan senyawa metabolit. Hal ini karena GC/MS juga memiliki tingkat sensitivitas tinggi sehingga dapat mendeteksi senyawa yang sulit dianalisis dengan metode lainnya. Berdasarkan uji yang telah dilakukan didapat hasil berupa kromatogram dengan puncak-puncak yang menunjukkan berbagai senyawa bioaktif yang terdeteksi berikut ini :



Gambar 2. Kromatogram hasil identifikasi senyawa bioaktif *Eucheuma* sp. metode GC/MS

Terdapat beberapa jenis senyawa bioaktif pada *Eucheuma* sp. yang dapat teridentifikasi dengan menggunakan metode GC/MS pelarut metanol, yang ditampilkan pada (tabel 3) :

Tabel 3. Identifikasi senyawa bioaktif *Eucheuma* sp. dengan menggunakan metode GC/MS

No	Ret. Time (min)	Senyawa Bioktif	Rumus Kimia	BM	Potensi
1	5,22	Anethole	$C_{10}H_{12}O$	148	<b>antioksidan</b> , antikejang, antimikroba, immuno-stimulan, neurotropik, dan antipasmodik (De Souza Silva-Comar et al., 2014; Leal-Cardoso et al., 2004).
2	6,43	Estragole	$C_{10}H_{12}O$	148	anti-imflamasi, antimeta-statik, <b>antioksidan</b> , antimokroba, dan antivirus (De Souza Silva-Comar et al., 2014; Moradi et al., 2014).
3	9,47	Methyl Ethyl phtalate	$C_{11}H_{12}O_4$	208	anti-jamur dan larvasida (Prawanayoni & Sudirga, 2020)
4.	10,33	Diethyl phthalat	$C_{12}H_{14}O_4$	222	anti-mikroba, insektisidal, dan antioksidan (Huang et al., 2021)
5	11,31	Phthalic acid	$C_{15}H_{20}O_4$	264	antimikroba, insektisidal, antiinflamasi, antivirus, antitumor, dan antidiabetes (Huang et al., 2021).
6	12,84	1-Nonylindane	$C_{18}H_{28}$	244	Tidak diketahui
7	13,09	2-Hydroxy cyclopentadecanone	$C_{15}H_{28}O_2$	240	antibiotik, antitumor, antiinflamasi, dan antikanker (Hussein, Ubaid, & Hameed, 2016; P. Liu, Li, & Liu, 2022)

8	13,34	Galaxolide	$C_{18}H_{26}O$	258	bersifat toksik jika terakumulasi dalam tubuh makhluk hidup (S. Liu, Zhou, & Chen, 2010).
9	17,07	Methyl 10-octadecenoate	$C_{19}H_{36}O_2$	296	antibakteri, antijamur, <b>antioksidan</b> (Belakhdar, Benjouad, & Abdennebi, 2015)

Berdasarkan gambar 2 kromatogram hasil GC/MS *Eucheuma* sp. dapat diketahui bahwa terdapat 19 senyawa bioaktif yang berhasil teridentifikasi. Dari 19 senyawa tersebut terdapat 9 senyawa bioaktif potensial yang ditunjukkan oleh (tabel 3). Dimana 4 diantaranya berpotensi sebagai zat antioksidan yaitu: Anethole, Estragole, Diethyl phthalate, dan Methyl 10-Octadecenoate. Meskipun terdapat beberapa macam senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai zat antioksidan, namun jika dikaitkan dengan hasil pada penelitian ini, zat antioksidan tersebut tidak cukup kuat untuk menghalau stress oksidatif yang disebabkan oleh ROS.

Selain itu, terdapat senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai insektisida dan larvasidal seperti: Methyl ethyl phtalate, Diethyl phthalat, dan Phthalic acid. Ketiga senyawa tersebut termasuk kedalam golongan senyawa *Phthalic acid esters* (PAEs). Berdasarkan jurnal yang ditulis oleh (Huang et al., 2021) diketahui bahwa golongan senyawa *Phthalic acid esters* (PAEs) memiliki potensi sebagai larvisidal dan insektisidal. Sehingga dapat diasumsikan bahwa menurunnya jumlah individu lalat buah yang diberi perlakuan pakan ekstrak *Eucheuma* sp. dikarenakan meningkatnya kematian saat fase larva akibat adanya senyawa PAEs. Namun diperlukan penelitian lebih lanjut agar dapat membuktikan hal tersebut.

Buah pisang (*Musa x paradisiaca* L.) yang digunakan sebagai pakan standar pada penelitian ini, diketahui memiliki beberapa senyawa bioaktif seperti senyawa aromatik dan senyawa fenolik. Senyawa fenolik pada buah pisang berpotensi sebagai zat antioksidan. Selain itu terdapat juga beberapa senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan seperti : vitamin B6, vitamin C, dan vitamin A (Ambarita, Bayu, & Setiado, 2016). Beragamnya senyawa antioksidan ditambah dengan tingginya kadar nutrisi (berupa sukrosa) yang terkandung di dalam buah pisang, dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan lalat buah (Prawanayoni & Sudirga, 2020; Wulandari, Widyastuti, & Ardiaria, 2018)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa lalat buah yang diberi perlakuan pakan buah pisang (baik PPI maupun PPIUV) memiliki rerata jumlah individu lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan pakan yang ditambahkan ekstrak *Eucheuma* sp. (PRL maupun PRLUV), baik pada fase larva, pupa, maupun imago. Hal ini disebabkan karena nutrisi yang terkandung di dalam pakan pisang lebih tinggi, dibandingkan dengan pakan yang ditambahkan

dengan ekstrak *Eucheuma* sp. Sehingga pakan pisang lebih efektif untuk mengurangi stress oksidatif akibat paparan sinar UV ataupun hasil metabolisme tubuh, dibandingkan dengan pakan ekstrak *Eucheuma* sp.

### **Pengaruh kadar Vitamin C pada media pakan terhadap hasil perlakuan**

Vitamin C atau asam askorbat adalah salah satu jenis mikronutrien yang memiliki peran penting bagi fungsi biologis tubuh makhluk hidup. Salah satunya adalah sebagai zat antioksidan. Vitamin C dikenal sebagai salah satu sumber zat antioksidan yang ampuh dalam mereduksi dan menangkal senyawa radikal bebas, termasuk ROS (Pehlivan, 2017).

Menurut penelitian sebelumnya (Sambodo, 2019), beberapa jenis rumput laut termasuk *Eucheuma* sp. mengandung vitamin C dalam kadar relatif rendah. Oleh karena itu, dilakukan penentuan kadar Vitamin C pada pisang dan rumput laut *Eucheuma* sp. yang digunakan sebagai bahan dasar untuk pembuatan media pakan pada penelitian ini. Adapun hasilnya adalah sebagai berikut:

Tabel 4. Kadar Vitamin C pada medium pakan

Medium	Rerata Kadar Vitamin C (mg/100g)
Rumput laut ( <i>Eucheuma</i> sp.)	$5,91 \pm 1,19^a$
Pisang	$23,79 \pm 1,16^b$

Ket : \*) Huruf yang berbeda pada masing-masing baris menunjukkan terdapat beda nyata yang signifikan terhadap taraf signifikansi 0,05

Berdasarkan tabel 4 dapat diketahui bahwa buah pisang memiliki kadar vitamin C 4x lipat lebih besar dibandingkan dengan rumput laut *Eucheuma* sp. Hasil uji statistik juga menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan antara kadar vitamin C pada rumput laut *Eucheuma* sp. dan juga buah pisang. Vitamin C pada buah pisang dapat mempengaruhi rerata sintasan individu di berbagai fase kehidupan lalat buah, baik larva, pupa maupun imago, serta kemampuan sintasan lalat buah. Sedangkan vitamin C pada pakan *Eucheuma* sp. dengan kadar relatif rendah tidak mampu menghalau stress oksidatif akibat ROS berlebih.

### **KESIMPULAN**

Kesimpulan dari penelitian ini adalah radiasi sinar UV dapat mempengaruhi rerata sintasan individu lalat buah (*Drosophila melanogaster* Meigen, 1830) pada stadium larva, pupa, dan imago. Adapun nilai kemampuan sintasan dari perlakuan PPI Kontrol sebesar 24,9%, perlakuan PPIUV

5,9%, perlakuan PRL 2,7%, dan perlakuan PRLUV sebesar 4,0%. Terdapat 19 jenis senyawa bioaktif yang teridentifikasi dalam rumput laut *Eucheuma* sp. dengan menggunakan metode GC/MS pelarut metanol. Beberapa senyawa bioaktif memiliki potensi sebagai zat antioksidan, contohnya: Estragole, Anethole, Diethyl phthalat, dan 10-Octadecenoic acid. Sembilan diantaranya memiliki potensi sebagai zat antimikroba. Dan senyawa bioaktif golongan Phthalic acid esters (PAEs) memiliki potensi sebagai larvisidal dan insektisidal. 3. Medium pakan perlakuan PPIUV memiliki penekanan radiasi sinar UV lebih tinggi 19,5% dibandingkan dengan medium pakan ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp. perlakuan PRLUV. Pada perlakuan tanpa paparan sinar UV, perlakuan PPI Kontrol memiliki kemampuan sintasan 6,9% lebih tinggi dibandingkan dengan kemampuan sintasan perlakuan PRL. Terdapat faktor lain yang mempengaruhi kemampuan sintasan lalat buah diantaranya adalah ketersediaan nutrisi pada pakan, densitas populasi, kelembaban, kompetisi, dan perilaku induk.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alatas, Z. (2011). Paradigma Bard Efek Radiasi Dosis Rendah. *Buletin Alara*, 13(2), 97–103.
- Ambarita, M. D. Y., Bayu, E. S., & Setiado, H. (2016). Identifikasi Karakter Morfologis Pisang (*Musa* Spp.) Di Kabupaten Deli Serdang. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 4(1), 1911–1924.
- Araújo, M. D. S., Gil, L. H. S., & E-Silva, A. D. A. (2012). Larval food quantity affects development time, survival and adult biological traits that influence the vectorial capacity of *Anopheles darlingi* under laboratory conditions. *Malaria Journal*, 11, 1–9. doi:10.1186/1475-2875-11-261
- Belakhdar, G., Benjouad, A., & Abdennebi, E. H. (2015). Determination of some bioactive chemical constituents from *Thesium humile* Vahl. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(10), 2778–2783.
- Bezerra Da Silva, C. S., Park, K. R., Blood, R. A., & Walton, V. M. (2019). Intraspecific Competition Affects the Pupation Behavior of Spotted-Wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*). *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. doi:10.1038/s41598-019-44248-6
- Brennan, P., & Fedor, C. (1988). *Sunlight, UV, & Accelerated Weathering*.
- Chapman, R. F. (2013). *The Insects Structure and Function*. 5th edition, edited by Stephen J. Simpson, Angela E. Douglas.
- Chiang, H. C., & Hodson, A. C. (1950). An Analytical Study of Population Growth in *Drosophila melanogaster*. *Ecological Society of America*, 20(3), 173–206.

- de Jager, T. L., Cockrell, A. E., & Du Plessis, S. S. (2017). Ultraviolet light induced generation of reactive oxygen species. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 996, pp. 15–23). Springer New York LLC. doi:10.1007/978-3-319-56017-5\_2
- De Souza Silva-Comar, F. M., Wiirzler, L. A. M., Silva-Filho, S. E., Kummer, R., Pedroso, R. B., Spironello, R. A., ... Cuman, R. K. N. (2014). Effect of estragole on leukocyte behavior and phagocytic activity of macrophages. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014*. doi:10.1155/2014/784689
- Ellong, E. N., Billard, C., Adenet, S., & Rochefort, K. (2015). Polyphenols, Carotenoids, Vitamin C Content in Tropical Fruits and Vegetables and Impact of Processing Methods. *Food and Nutrition Sciences, 06*(03), 299–313. doi:10.4236/fns.2015.63030
- Fauzi, A., Ramadani, S. D., & Sukmawati, I. (2017). The consistency of sex ratio of *Drosophila melanogaster* (Meigen) in different physical environment condition. *Proceeding of International Conference on Green Technology, 8*(1), 176–179.
- Gong, X. (2009). *Mutagenic Effect of UV Exposure on Metabolic Activity of Fruit Flies (Drosophila melanogaster)*. Saddleback College: Departemen of Biological Sciences.
- Grenier, T., & Leulier, F. (2020). How commensal microbes shape the physiology of *Drosophila melanogaster*. *Current Opinion in Insect Science, 41*, 92–99. doi:10.1016/j.cois.2020.08.002
- Huang, L., Zhu, X., Zhou, S., Cheng, Z., Shi, K., Zhang, C., & Shao, H. (2021). Phthalic acid esters: Natural sources and biological activities. *Toxins, 13*(7). doi:10.3390/toxins13070495
- Hussein, H. J., Ubaid, J. M., & Hameed, I. H. (2016). Gas Chromatography - Mass spectrum analysis of volatile components of methanolic leaves extract of *Cordia Myxa*. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research, 7*(6), 400–406.
- Jennings, B. H. (2011). *Drosophila*-a versatile model in biology & medicine. *Materials Today, 14*(5), 190–195. doi:10.1016/S1369-7021(11)70113-4
- Karthi, S., Sankari, R., & Shivakumar, M. S. (2014). Ultraviolet-B light induced oxidative stress: Effects on antioxidant response of *Spodoptera litura*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 135*, 1–6. doi:10.1016/j.jphotobiol.2014.04.008
- Kim, D., Alvarez, M., Lechuga, L. M., & Louis, M. (2017). Species-specific modulation of food-search behavior by respiration and chemosensation in *Drosophila* larvae. *ELife, 6*, 1–23. doi:10.7554/eLife.27057
- Kusumawati, N., & Sudaryadi, I. (2022). Effect of Feeding Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) Extract on Survival Rate and Reproductive Organ Morphology of Fruit Fly (*Drosophila melanogaster* Meigen, 1830) Ultraviolet Light Irradiation. *Berkala Ilmiah Biologi, 13*(3), 9–18.

doi:10.22146/bib.v13i3.5215

- Leal-Cardoso, J. H., Matos-Brito, B. G., Lopes-Junior, J. E. G., Viana-Cardoso, K. V., Sampaio-Freitas, A. B., Brasil, R. O., ... Albuquerque, A. A. C. (2004). Effects of estragole on the compound action potential of the rat sciatic nerve. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37(8), 1193–1198. doi:10.1590/S0100-879X2004000800009
- Liu, P., Li, W., & Liu, X. (2022). A novel synthesis method of cyclopentadecanone and cyclopentadecanolide from vegetable oil. *BMC Chemistry*, 16(1), 1–6. doi:10.1186/s13065-022-00840-y
- Liu, S., Zhou, Q., & Chen, C. (2010). Antioxidant Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in Earthworm *Eisenia fetida* Exposed to 1,3,4,6,7,8-Hexahydro-4,6,6,7,8,8-hexamethylcyclopenta-c-2-benzopyran. *Environmental Toxicology*, 27(8), 472–479. doi:10.1002/tox
- Long, T. A. F., & Pischedda, A. (2005). Do female *Drosophila melanogaster* adaptively bias offspring sex ratios in relation to the age of their mate? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1574), 1781–1787. doi:10.1098/rspb.2005.3165
- Ma, C., Yang, K., Wang, Y., & Dai, X. (2019). marine drugs Anti-Aging Effect of Agar Oligosaccharide on Male. *Marine Drugs*, 17(632), 1–14. doi:doi:10.3390/md17110632
- Maheswari, M. Uma., Reena, A., & Sivaraj C. (2017). GC-MS analysis, antioxidant and antibacterial activity of the brown algae, *Padina tetraströmatica*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 41(2), 84–93. doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.8(9).4014-20
- Mirzoyan, Z., Sollazzo, M., Allocca, M., Valenza, A. M., Grifoni, D., & Bellosta, P. (2019). *Drosophila melanogaster*: A model organism to study cancer. *Frontiers in Genetics*. Frontiers Media S.A. doi:10.3389/fgene.2019.00051
- Moradi, J., Abbasipour, F., Zaringhalam, J., Maleki, B., Ziaee, N., Khodadoust, A., & Janahmadi, M. (2014). Anethole, a medicinal plant compound, decreases the production of pro-inflammatory TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in a rat model of LPS-induced periodontitis. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(4), 1319–1325.
- Muawanah, Ahmad, A., & Natsir, H. (2016). Antioxidant activity and toxicity polysaccharide extract from red algae *Euclima spinosum* and *Euclima cottonii*. *Marina Chimica Acta*, 17(2), 15–23.
- Pai, S., Hebbar, A., & Selvaraj, S. (2022). A critical look at challenges and future scopes of bioactive compounds and their incorporations in the food, energy, and pharmaceutical sector. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(24), 35518–35541. doi:10.1007/s11356-

022-19423-4

- Pehlivan, F. E. (2017). Vitamin C: An Antioxidant Agent. *Vitamin C*. doi:10.5772/intechopen.69660
- Prasasty, V. D., Haryani, B., Hutagalung, R. A., Mulyono, N., Yazid, F., Rosmalena, R., & Sinaga, E. (2019). Evaluation of antioxidant and antidiabetic activities from red seaweed (*eucheuma cottonii*). *Systematic Reviews in Pharmacy*, 10(1), 276–288. doi:10.5530/srp.2019.1.44
- Prawanayoni, S. S., & Sudirga, S. K. (2020). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antijamur Daun Jeringau (*Acorus calamus* Linn.) Sebagai Pengendali Jamur *Athelia rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Busuk Batang Pada Tanaman Kedelai. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 7(2), 10. doi:10.24843/metamorfosa.2020.v07.i02.p02
- Sambodo, D. K. (2019). Antioxidant activity of Sumbawa red seaweed ( *Eucheuma cottonii* ) extract and lemon peel ( *Citrus limon* L ) extract combination Aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak rumput laut merah ( *Eucheuma cottonii* ) Sumbawa dan ekstrak kulit buah lemon ( *Citrus l.* *Jurnal Imiah Farmasi*, 15(2), 86–91.
- Saucedo, M. O., Sánchez Rodríguez, S. H., Aréchiga Flores, C. F., Bañuelos Valenzuela, R., & López Luna, M. A. (2019). Olarte Saucedo, Maricela. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(2), 416–432.
- Schowalter, T. D. (2006). *Insect Ecology: An Ecosystem Approach*. *Insect Ecology: An Ecosystem Approach* (2nd ed.). London: Academic Press. doi:10.1016/C2009-0-60945-4
- Tuieng, R. J., Cartmell, S. H., Kirwan, C. C., & Sherratt, M. J. (2021, November 1). The effects of ionising and non-ionising electromagnetic radiation on extracellular matrix proteins. *Cells*. MDPI. doi:10.3390/cells10113041
- Wulandari, R. T., Widyastuti, N., & Ardiania, M. (2018). PERBEDAAN PEMBERIAN PISANG RAJA DAN PISANG AMBON TERHADAP VO<sub>2</sub>max PADA REMAJA DI SEKOLAH SEPAK BOLA. *Journal of Nutrition College*, 7(1). Retrieved from <http://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jnc/>