

UJI AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DENGAN METODE WATER SOLUBLE TETRAZOLIUM SALT-1 (WST-1)

Fitriana Novita Sari*, Ana Indrayati, Pudiastuti Rahayu Sawarno Putri

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

*Email : fitriananovitasari59@gmail.com

ABSTRAK

Radikal bebas dapat menyebabkan berbagai macam penyakit degeneratif dan penuaan kulit. Radika bebas dapat dinetralkan dengan antioksidan enzimatis yaitu superoksida dismutase (SOD). Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas SOD cukup tinggi adalah salam (*Syzygium polyanthum*). Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak kasar SOD daun salam yang diendapkan dengan garam ammonium sulfat variasi konsentrasi 25, 50, 75%. Penelitian diawali dengan determinasi tanaman, ekstraksi enzim, pengendapan ekstrak enzim dengan ammonium sulfat konsentrasi 25, 50, 75%, pengukuran kadar protein total dan uji aktivitas SOD menggunakan metode WST-1 untuk menghitung persen inhibisi. Hasil dianalisis secara statistik menggunakan *one way* ANOVA. Hasil penelitian diperoleh kadar protein total ekstrak kasar SOD dan hasil pengendapan dengan garam ammonium sulfat 25, 50, dan 75% secara berturut-turut sebesar 9,38; 6,36; 8,50; dan 11,6 mg/ mL. Sedangkan nilai persen inhibisi masing-masing adalah 73,13; 34,33; 65,67; dan 80,59%. Aktivitas SOD tertinggi diperoleh pada ekstrak kasar enzim yang diendapkan dengan garam ammonium sulfat 75% yaitu sebesar 80,59%.

Kata kunci: *Syzygium polyanthum*, Radikal bebas, SOD, WST-1

ABSTRACT

Free radicals can cause various kinds of degenerative diseases and skin aging. Free radicals can be neutralized with an enzymatic antioxidant, namely superoxide dismutase (SOD). One of the plants that has high SOD activity is salam (Syzygium polyanthum). The aim of this study was to determine the activity of the crude SOD extract of bay leaves precipitated with ammonium sulfate salt at various concentrations of 25, 50, 75%. The study began with plant determination, enzyme extraction, precipitation of enzyme extracts with ammonium sulfate concentrations of 25, 50, 75%, measurement of total protein content and SOD activity test using the WST-1 method to calculate the percent inhibition. The results were statistically analyzed using one way ANOVA. The results showed that the total protein content of the crude extract of SOD and the results of precipitation with ammonium sulfate 25, 50, and 75% respectively were 9.38; 6.36; 8.50; and 11.6 mg/mL. Meanwhile, the percentage inhibition values were 73.13; 34.33; 65.67; and 80.59%. The highest SOD activity was obtained in the crude extract of the enzyme precipitated with 75% ammonium sulfate salt, which was 80.59%.

Keywords: *Syzygium polyanthum*, Free radicals, SOD, WST-1

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah faktor penyebab berbagai penyakit pada tubuh manusia. Radikal bebas merusak sel-sel dalam tubuh, sehingga tubuh kita membutuhkan antioksidan untuk melawan radikal bebas¹². Antioksidan berguna dalam menangkal radikal bebas dan mengatasi kerusakan oksidatif dalam tubuh¹³. Salah satu enzim antioksidan adalah SOD. Mekanisme antioksidan tanaman tersebut diduga berasal pada senyawa flavonoid yang diduga terdapat pada daun salam⁹.

Senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan berupa asam fenolik, flavonoid, vitamin C, dapat menghambat produksi radikal bebas yang berlebih¹¹. Flavonoid memiliki khasiat sebagai antiradang, antihistamin, antimikrobia, antifungi, antikanker, dan antiinflamasi¹³.

Pada penelitian sebelumnya ekstrak daun salam meliputi daun muda, setengah tua serta daun tua memiliki nilai IC₅₀ masing-masing 37,44; 14, 89; 11,00 ppm⁵. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun salam mempunyai aktivitas SOD yang

cukup tinggi yang dapat menangkal radikal bebas tersebut¹⁶.

Penelitian metabolit primer yaitu enzim SOD daun salam belum banyak dilakukan sehingga peneliti tertarik untuk melakukan ekstraksi enzim daun salam serta ditentukan aktivitas SOD-nya. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak kasar SOD daun salam yang diendapkan dengan garam ammonium sulfat variasi konsentrasi 25, 50, 75% dengan metode WST-1.

METODE PENELITIAN

alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, pisau, pH meter, blender, gelas ukur, kulkas, kain flannel, sentrifuga, tabung sentrifuga, *magnetic stirrer*, beaker glass, labu ukur, vial, pipet volume dan ukur, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet, plat ELISA 96, inkubator, dan *microplate reader*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun salam, *phosphate buffered saline* (PBS), aquabidest, amonium sulfat, 2% Na₂CO₃, NaOH 0,10 N, 0,5% CuSO₄.5H₂O, 1% Natrium Kalium Tartrat, reagen *Folin-*

Ciocalteu phenol, *Bovine Serum Albumin* (BSA), WST-1 *dapar assay*, dan vitamin C.

Determinasi Tanaman dan Pengambilan Sampel

Determinasi tanaman dilakukan Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah. Pengambilan bahan baku sampel adalah daun salam yang diperoleh dari daerah Cawas, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah Daun salam yang diambil adalah pucuk daun ketiga dalam satu pohon, bebas penyakit, masih muda, dan segar.

Ekstraksi Daun Salam

Sebanyak 100 gram daun salam dipotong kecil-kecil. Setelah itu, dihomogenisasi dengan blender dan ditambah larutan buffer fosfat pH 7,2 yang mengandung fosfat 0,02 M dan NaCl 0,15 M sebanyak 160 mL dan dibiarkan semalaman pada suhu 4°C, kemudian disaring menggunakan kain flanel. Filtrat yang didapatkan diinginkan dalam suhu 4°C selama semalaman lalu disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit dalam suhu 4°C untuk mendapatkan

endapan dan supernatan.

Pemurnian Ekstrak Enzim SOD Daun Salam

Ekstrak kasar enzim ditambah amonium sulfat 25%, 50%, 75% sebanyak 4,02; 8,73; 14,28 gram sedikit demi sedikit sembari diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu 4°C. Setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit.

Penetapan Kadar Protein dengan Metode Lowry

Tahap awal adalah menyiapkan reagen Lowry yang terdiri atas Reagen Lowry A (2% Na₂CO₃ dalam 0,10 N NaOH) dan reagen B (0,5% CuSO₄.5H₂O dalam 1% natrium kalium tartrat). Reagen A sebanyak 50 ml ditambahkan dalam 1 mL reagen B untuk membuat reagen C. Reagen D dibuat dengan cara 10 ml fenol *Folin-Ciocalteu phenol* dilarutkan dalam 10 mL aquabidest.

Tahap berikutnya adalah pembuatan larutan induk BSA 1000 ppm dengan cara sebanyak 50 mg BSA dilarutkan dengan aquabidest sebanyak 50 mL. Kemudian larutan BSA dimasukkan dalam labu ukur 10 mL sebanyak 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5

mL serta ditambah aquabidest hingga tanda batas 10 mL. Aquabidest digunakan sebagai blanko. Selanjutnya, masing-masing larutan BSA dipipet sebanyak 1 mL, ditambah 5 mL reagen Lowry C, digojog dan ditunggu selama 10 menit. Kemudian sebanyak 0,5 mL reagen Lowry D ditambahkan dan larutan tersebut ditunggu selama 25 menit. Masing-masing konsentrasi BSA diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum.

Sampel diencerkan hingga 100x, kemudian diukur kadarnya dengan cara yang sama seperti

mengukur kadar BSA. Kadar protein total ditentukan berdasarkan persamaan regresi linier dari kurva baku BSA.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak SOD Daun Salam

Ekstrak kasar SOD daun salam, ekstrak hasil pengendapan dengan ammonium sulfat variasi konsentrasi, kontrol negatif, dan positif masing-masing ditambahkan 200 μ l WST *working solution* dan 20 μ l *enzyme working solution*. Komposisi larutan sampel, blanko 1, blanko 2, dan blanko 3 disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi larutan sampel, kontrol positif dan negatif, serta blanko

x	Kontrol (+) (μ l)	Kontrol (-) (μ l)	Sampel (μ l)	Blanko 1 (μ l)	Blanko 2 (μ l)	Blanko 3 (μ l)
Larutan sampel			20		20	
ddH ₂ O						
WST <i>working Solution</i>	200	200	200	200	200	200
<i>Enzyme working Solution</i>	20	20	20	20		
Larutan dapar		20			20	20
Vitamin C	20					

Menurut Qwele *et al.*, (2013)

Larutan standar, kontrol positif dan negatif, sampel, blanko 1, blanko 2 dan blanko 3 dimasukkan dalam plat ELISA 96 *well*. Kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C. Larutan kemudian dibaca

absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*⁹. Aktivitas SOD dihitung dengan menggunakan persen inhibisi, dengan rumus sebagai berikut⁴ :

% Inhibisi =

$$\frac{(A \text{ blanko 1-A blanko 3})-(A \text{ sampel-A blanko 2})}{(A \text{ blanko 1-A blanko 2})}$$

×100 %

Analisis Hasil

Kadar protein dan aktivitas ekstrak SOD daun salam dianalisis dengan metode *One Way* ANOVA. Syarat uji ANOVA data penelitian ini harus terdistribusi normal dan homogen. Nilai sig. > 0,05 pada uji normalitas dengan *Shapiro wilk* yang artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya, nilai sig. > 0,05 pada uji homogenitas varian dengan *Leave test* memiliki arti yaitu, data homogen. Analisis *One-way* ANOVA dilakukan untuk dilihat dari ada tidaknya perbedaan signifikan, adanya perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji *post-hoc* dengan metode *Tukey*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman daun salam dilakukan di Laboratorium B2P2TOOT Tawangmangu, Jawa Tengah. Berdasarkan surat No. 844/H6-04/22.07.2022 pada tanggal 22 Juli 2022 bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tanaman salam (*Syzygium polyanthum*) dengan hasil determinasi sebagai berikut:

Nama sampel : salam.

Spesies : *Syzygium polyanthum*

Famili : *Myrtaceae*.

Ekstraksi enzim SOD dari daun salam didapatkan supernatan yaitu, sebanyak 175 mL dari 100 gram daun salam dan dapar fosfat 200 mL. Ekstraksi enzim menggunakan blender dengan penambahan larutan dapar fosfat salin pH 7,2 yang mengandung fosfat 0,02 M dan NaCl 0,15 M.

Hasil homogenisasi sebelum disaring didinginkan pada suhu 4°C dan didiamkan semalaman bertujuan agar dapat mempertahankan enzim supaya tidak rusak selama proses ekstraksi, kemudian disaring menggunakan kain flannel.

Sentrifugasi yang dilakukan pada penelitian ini dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Supernatan digunakan sebagai ekstrak kasar enzim. Supernatan yang diperoleh adalah sebanyak 160 mL.

Pemurnian ekstrak SOD daun salam dengan cara pengendapan menggunakan menggunakan garam ammonium sulfat variasi konsentrasi 25, 50, 75% dan didapatkan data bobot pelet dari ekstrak enzim tersebut. Hasil

bobot pelet yang sudah dimurnikan pada tabel 2 :

Tabel 2. Bobot pelet ekstrak kasar enzim dari hasil pemurnian

Sampel (%)	Bobot (g)
Amonium sulfat 25	0,13
Amonium sulfat 50	0,19
Amonium sulfat 75	1,47

Pelet hasil pemurnian didapatkan hasil bahwa semakin tinggi amonium sulfat ditambahkan, maka proteinnya akan semakin banyak pula yang mengendap. Bobot pelet yang tertinggi dihasilkan pada konsentrasi amonium sulfat 75% dan bobot pelet yang terendah dihasilkan pada konsentrasi amonium sulfat 25%.

Optimasi panjang gelombang untuk menentukan kadar protein total diperoleh panjang gelombang maksimum 750 nm dengan *operating time* (OT) yang didapatkan yaitu, 35–45 menit. Perbandingan yang digunakan pada penelitian ini adalah BSA dengan seri konsentrasi 50, 75, 100, 125, 150 ppm.

Tabel 4. Kadar protein sampel menggunakan metode *Lowry*

Sampel	Kadar 1 (mg/ml)	Kadar 2 (mg/ml)	Kadar 3 (mg/ml)	Rata-rata ± SD
Ekstrak kasar	9,20	9,51	9,42	9,38 ± 0,156
Konsentrasi amonium sulfat 25%	6,27	6,42	6,38	6,36 ± 0,078

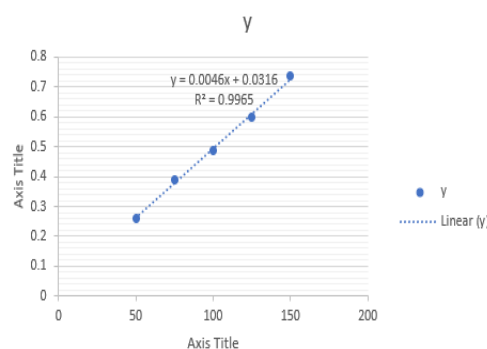
Nilai absorbansi kurva standar BSA (Tabel 3) digunakan untuk menentukan persamaan regresi linier

Tabel 3. Nilai absorbansi konsentrasi larutan induk (BSA) sebagai pembanding

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
50	0,26
75	0,39
100	0,49
125	0,60
150	0,74

Hasil dari kurva standar BSA diatas menunjukkan bahwa kurva slop positif dengan gradien garis mendekati 1 yaitu $r = 0,996$. Dengan regresi linear, diperoleh nilai $a = 0,0316$ dan $b = 0,0046$. Sehingga, untuk persamaan garis $y = a + bx$ diperoleh persamaan $y = 0,0316 + 0,0046x$.

Gambar 1. Kurva dan persamaan kalibrasi konsentrasi absorbansi BSA



Sampel	Kadar 1 (mg/ml)	Kadar 2 (mg/ml)	Kadar 3 (mg/ml)	Rata-rata ± SD
50%	8,38	8,60	8,53	8,50 ± 0,111
75%	11,55	11,66	11,59	11,60 ± 0,055

Hasil dari kadar protein ekstrak kasar enzim SOD daun salam yang tertinggi diperoleh pada pelet konsentrasi amonium sulfat 75%, sedangkan kadar protein terendah diperoleh pada pelet konsentrasi amonium sulfat 25%. Pelet konsentrasi amonium sulfat 75% memiliki kadar protein yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar dan pelet konsentrasi amonium sulfat 25 dan 50% karena pelet konsentrasi amonium sulfat 75% merupakan konsentrasi amonium sulfat tertinggi. Semakin tinggi konsentrasi amonium sulfat yang digunakan, maka semakin efektif dalam mengendapkan protein. Semakin banyak protein yang mengendap maka kadar protein semakin tinggi⁷. Semakin tinggi konsentrasi amonium sulfat yang ditambahkan maka, semakin tinggi juga kadar protein totalnya.

Uji aktivitas SOD diawali dengan menentukan nilai absorbansi blanko 1, 2 dan 3 (Tabel 5.)

Tabel 5. Nilai absorbansi pada blanko

WST-1	
Blanko	Absorbansi
1	0,17
2	0,03
3	0,10

Nilai absorbansi ketiga blanko digunakan untuk menentukan nilai persen inhibisi SOD. Larutan blanko berfungsi sebagai pengoreksi untuk absorbansi SOD yang diukur. Nilai absorbansi yang di dapatkan berbeda-beda karena disebabkan komposisi dari blanko 1, 2, dan 3.

Penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah PBS. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh pada uji aktivitas SOD kontrol positif dan negatif, ekstrak kasar dan amonium sulfat konsentrasi 25, 50, 75% dapat mendapatkan hasil enzim SOD yang berbeda pada setiap sampelnya. Aktivitas SOD tertinggi pada penelitian ini adalah amonium sulfat konsentrasi 75%, sedangkan aktivitas

SOD terendah adalah pada Hasil uji aktivitas SOD dapat dilihat pengendapan ekstrak enzim dengan pada tabel 6. amonium sulfat konsentrasi 25%.

Tabel 6. Uji aktivitas enzim SOD daun salam

Sampel	%inhibisi (1)	%inhibisi (2)	%inhibisi (3)	Rata-rata ± SD
Kontrol positif	82,09	83,58	85,07	83,58 ± 1,49
Kontrol negatif	2,99	4,68	5,97	4,54 ± 1,49
Ekstrak kasar	74,63	71,64	73,13	73,13 ± 1,49
Konsentrasi amonium sulfat				
25%	32,84	34,33	35,82	34,33 ± 1,49
50%	68,66	65,67	62,69	65,67 ± 2,99
75%	80,58	79,10	82,90	80,59 ± 1,49

Hasil uji aktivitas SOD ekstrak kasar daun salam menunjukkan bahwa besarnya aktivitas SOD dapat dilihat dari nilai absorbansi yang terendah. Uji aktivitas SOD berdasarkan nilai persen inhibisi dari terendah ke tertinggi adalah konsentrasi amonium sulfat 25, 50, ekstrak kasar, dan 75%. Hasil SPSS menunjukkan bahwa kontrol positif dan negatif, ekstrak kasar, serta presipitasi amonium sulfat memiliki aktivitas SOD. Kontrol negatif aktivitas SOD didapatkan %inhibisi yang sangat lemah dengan nilai rata-rata sebesar 4,544 ± 1,492. Ekstrak kasar dan konsentrasi presipitasi amonium sulfat 75% memiliki nilai %inhibisi tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif, sehingga untuk konsentrasi amonium

sulfat yang paling optimum adalah konsentrasi amonium sulfat 75%.

Hasil SPSS uji aktivitas SOD menunjukkan bahwa kontrol positif, kontrol negatif dan presipitasi amonium sulfat konsentrasi 25, 50 dan 75% memiliki aktivitas SOD. Namun, pada kontrol negatif memiliki aktivitas SOD yang kecil. Konsentrasi amonium sulfat yang paling optimum adalah konsentrasi amonium sulfat 75% karena presipitasi amonium sulfat konsentrasi 75% tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif. Namun, hasil antara ekstrak kasar dan presipitasi amonium sulfat konsentrasi 25, 50 dan 75% terdapat perbedaan yang signifikan.

KESIMPULAN

Kadar protein total ekstrak

kasar SOD dan hasil pengendapan dengan garam ammonium sulfat 25, 50, dan 75% secara berturut-turut sebesar 9,38; 6,36; 8,50; dan 11,6 mg/mL. Sedangkan nilai persen inhibisi masing-masing adalah 73,13; 34,33; 65,67; dan 80,59%. Aktivitas SOD tertinggi diperoleh pada ekstrak kasar enzim yang diendapkan dengan garam ammonium sulfat 75% yaitu sebesar 80,59%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya yang diberikan, Dr. Ana Indrayati, M.Si. dan Pudiastuti Rahayu Sawarno Putri selaku dosen pembimbing, beserta seluruh staff pengajar Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Kedua orang tua, sahabat, dan keluarga.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bahriul, P. Rahman, N. Diah, A. W. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan menggunakan 1,1- Difenil- 2- Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3): 143- 149.
2. Dari, B., Pencernaan, S., & Vaname, U. 2020. Analisis Hasil Fraksinasi Protease Dan Lipase Yang Berasal Dari Saluran Pencernaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*. Vol 7 (2): 194-202.
3. Febrianti DR, Ariani N, Niah R, Jannah R. 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Jeruk Siam Banjar (*Citrus reticulata*). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 2(1): -6.
4. Hadisaputri, Y. E. dan R. Abdulah. 2020. Sel Kultur Edisi Uji Perembangbiakan. *Deepublish. Sleman*.
5. Herlina H, Mulyani E, Wulandari T. 2022. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Pada Minuman Infused Water Dari Jeruk Nipis, Jeruk Lemon dan Jeruk Kalamansi Dengan Metode DPPH. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 5(1): 56-65.
6. Indratmoko, S., Vegga Dwi Fadilla, dan Lulu Setiyabudi. 2021. Optimasi Formula Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmaqueous : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 3(1), 46–56.
7. Mayasari. 2016. Pemurnian Enzim Amilase Kasar dari Bakteri Amilolitik Endogenous Bekatul Secara Parsial Menggunakan Ammonium Sulfat. Malang. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
8. Niah R, Febrianti DR, Ariani N. 2020. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Daun Sepat (*Mitragynaspeciosa*) dan Daun Dadangkak (*Hydrolea spinosa L.*). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 3(2): 387-393.
9. Novitasari, H., Nashihah, S., dan

- Zamzani, I. 2021. Identifikasi Daun Sangkareho (*Callicarpa longifolia* Lam) secara Makroskopis dan Mikroskopis. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. 3(5): 667-672.
10. Puspita W, Sari DY, Rahman IR. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* L.) Asal Kabupaten Melawi Provinsi Kalimantan Barat Dengan Metode DPPH. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 3(2): 405-412.
 11. Puspitasari, O. dan Wuryanti. 2010. Isolasi Enzim L-Asparaginase dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dan Uji Potensi terhadap Kultur Sel Leukemia Tipe K562. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 13(2): 61-65.
 12. Qwele, K.,A. Hugo, S.O. Oyedemi, B. Moyo, P.J. Masika, and V. Muchenje. 2013. Chemical composition, fattic acid content and antioxidant potential of meat from goat supplemented with moringa (*Moringa olifera*) leaves, sunflower cake and grass hay. *J. Meat science*. 93: 455-462.
 13. Rasyadi Y, Agustin D, Aulia G. 2022. Aktivitas Antioksidan Lipbalm Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.S.m). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 5(1): 140-148.
 14. Rush J.W.E, Denniss S.G, Graham D.A. 2005. Vascular Nitric Oxide and Oxidative Stress: Determinants of Endothelial Adaptations to Cardiovascular Disease and to Physical Activity. *Can J Appl Physiol*. 30(4): 442-474.
 15. Setyoko, H. dan B. Utami. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Selulase Cairan Rumen Sapi untuk Hidrolisis Biomassa. *Proceeding Biology Education Conference*. 13(1): 863-867.
 16. Widowati, W., Safitri, R., Rumumpuk, R., Siahaan, M., 2005. Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase Pada Berbagai Tanaman. *Maranatha Journal of Medicine and Health*. Vol. 5(1).