Artikel Penelitian

Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Alga Cokelat (*Padina australis*) dari Kepulauan Poteran Madura
Phytochemical screening of secondary metabolite *Padina australis* from Poteran Island Madura¹Nani Wijayanti D.N., ¹Giftania Wardhani Sudjarwo, ¹Oki Nugraha Putra

Prodi Farmasi Universitas Hang Tuah, Surabaya, Indonesia

nani.wijayanti@hangtuah.ac.id, 085730438268)

ABSTRAK : Alga cokelat (*Padina australis*) merupakan tanaman laut yang sangat melimpah di perairan Indonesia terutama Pulau Madura. Alga cokelat dikenal sebagai penghasil senyawa bioaktif seperti alginate, karagenan, dan agar yang dapat dimanfaatkan dalam dunia kefarmasian. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan skrining fitokimia metabolit sekunder yang terdapat dalam *Padina australis*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% *Padina australis*, HCl 2 N, NaCl, Pereaksi Mayer dan Wagner, NH₄OH 28%, methanol, air, etil asetat, Pereaksi Dragendorff, asam asetat anhidrat, H₂SO₄, n-heksan, anisaldehyd asam sulfat, HCl (p), potongan magnesium, butanol, asam asetat glacial, NaCl 10%, gelatine, kloroform, dan FeCl₃. Metode penetapan metabolit sekunder dilakukan dengan reaksi warna/pengendapan dan kromatografi lapis tipis. Skrining fitokimia yang dilakukan pada sampel ekstrak etanol 96% *Padina australis* menunjukkan bahwa *Padina australis* mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tannin, saponin.

Kata kunci : Metabolit sekunder, skrining fitokimia, *Padina australis*, pulau Poteran Madura

ABSTRACT: Brown algae (*Padina australis*) is a marine plant that is very abundant in Indonesian coastal water especially in Madura Island. Its known as producer of bioactive compound which can be used in pharmaceutical. A preliminary study of phytochemical screening has been conducted to assess of secondary metabolite in *Padina australis*. We used 96% ethanol extract of *Padina australis*, HCl 2 N, NaCl, Meyer and Wagner reagent, Dragendorff reagent, acetic acid anhydride, H₂SO₄, n-hexane, anisaldehyde sulphuric acid, HCl (p), magnesium, butanol, acetic acid, NaCl 10%, gelatine, chloroform, and FeCl₃. Qualitative phytochemical screening was carried out with color reaction and thin layer chromatography. The determination showed that the sample was *Padina australis*. The 96% ethanol extract contained alkaloids, flavonoid, steroid, terpenoid, tannin, and saponin.

Keywords : Secondary metabolite, phytochemical screening, *Padina australis*, Poteran island Madura

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia yang memiliki wilayah laut yang sangat luas dengan sumber daya hayati yang kaya dan beranekaragam. Di samping fauna laut yang beraneka ragam dijumpai juga flora laut seperti alga yang dapat dimanfaatkan untuk makanan, obat-obatan, dan bahan baku farmasi lainnya. Salah satu sumber daya hayati laut yang sangat potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomis tinggi adalah alga laut, yang juga dikenal di masyarakat dengan nama alga (*seaweed*). Alga telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan dengan cara mengkonsumsinya secara langsung, dan diproses menjadi berbagai pangan olahan.¹ Budidaya alga telah dilakukan di beberapa daerah antara lain Kepulauan Riau, Lampung, Selat Sunda, Kepulauan Seribu, Karimunjawa, Madura, Bali, Lombok, Sumbawa, Sulawesi Selatan, Sulawesi Utara dan Flores. Pulau Poteran, disebut sebagai pulau Talango adalah salah satu pulau kecil yang dekat dengan pulau Madura, tepatnya berada di kabupaten Sumenep yang merupakan kabupaten Provinsi Jawa Timur. Secara geografis pulau ini terletak pada koordinat 7,040 – 7,120 LS dan 113,920 – 114,080 BT dengan luas sekitar 49,8 km². Pulau poteran memiliki ketinggian kurang dari 500 meter dari permukaan laut dan termasuk pulau dengan tingkat kemiringan kurang dari 30%.^{2, 3}

Pulau Poteran memiliki sumber daya alam yang sangat berpotensi untuk dikembangkan salah satunya adalah komoditas alga. Pulau tersebut memiliki perairan perairan laut yang banyak ditumbuhi karang, perairannya tenang serta memiliki intensitas cahaya yang cukup sehingga banyak ditumbuhi alga, baik jenis alga hijau, alga merah dan alga cokelat. Salah satu alga cokelat yang banyak tumbuh di Talango adalah *Padina australis*. Menurut Kalalo (2014)⁴, suhu perairan yang menunjang kehidupan beberapa jenis alga berkisar 24-31°C dengan rata-rata suhu di Pulau Poteran setiap tahunnya sekitar 27°C dengan suhu minimum 24°C dan suhu maksimum 32°C. Hal ini menunjukkan bahwa pulau Poteran baik untuk pertumbuhan alga.³

Makroalga merupakan tumbuhan yang hidup di laut, tergolong dalam *Thalophyta*, karena tidak mempunyai akar, batang dan daun sejati, melainkan hanya menyerupai batang yang disebut *thallus*.⁵ Klasifikasi alga berdasarkan pigmen, terbagi menjadi beberapa

Artikel Penelitian

kelompok yaitu *Rhodophyceae* (Alga merah), *Chlorophyceae* (Alga hijau), dan *Phaeophyceae* (Alga coklat).⁶

Di antara alga tersebut, alga coklat selain dapat dikonsumsi, merupakan salah satu sumber senyawa bioaktif karena mampu memproduksi metabolit sekunder yang bervariasi dengan aktivitas biologi yang luas. Alga juga merupakan sumber daya yang kaya akan berbagai metabolit sekunder.^{7, 8}

Padina australis merupakan spesies alga laut dari Divisi Phaeophyta (alga coklat) yang pada umumnya tersebar di perairan laut, mulai dari perairan dangkal hingga perairan dalam. Alga ini memiliki bentuk lembaran atau filamen yang lebar yang berwarna coklat transparan.³ Makro alga *Phaeophyta* merupakan sumber potensial senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi pengembangan industri farmasi sebagai antibakteri, antioksidan, antibakteri dan masih banyak lagi manfaatnya di dunia kesehatan.⁹ Hasil penelitian uji fitokimia dengan ekstrak aseton diperoleh bahwa *P. australis* mengandung senyawa steroid, terpenoid, polifenol dan saponin yang berpotensi sebagai antibakteri.¹⁰ *Padina australis* termasuk kedalam alga yang memiliki ukuran besar dan mudah dilihat dengan mata biasa, bentuknya seperti kipas, dalam perkembangbiakannya bagian talus sering terkoyak dalam bentuk *cluster* (kelompok). *P. australis* mempunyai tubuh buah yang terdiri dari *hold-fast* (seperti akar), *stipe* (seperti batang), *blade* (seperti daun).¹¹ Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian terkait skrining fitokimia dari *Padina australis* sebagai dasar untuk pengembangan potensi dan penelitian terkait aktivitas metabolit sekunder dari *Padina australis*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian dilakukan dengan melakukan identifikasi dari Alga Coklat (*Padina australis*). Adapun sampel yang digunakan adalah alga Coklat (*Padina australis*) yang diperoleh dari Kepulauan Potaan Madura yang diambil dengan metode *non probability sampling* dimana alga coklat dari Kepulauan Potaan Madura diambil secara acak dari suatu populasi. Sampel *Padina australis* dilakukan pencucian dengan air mengalir dan pengeringan dengan cara diangin – anginkan tanpa terkena matahari langsung yang dilanjutkan dengan proses ekstraksi. Pencucian sampel

Artikel Penelitian

Padia australis dengan air mengalir untuk membersihkan kotoran – kotoran dan garam-garam yang masih menempel. Adapun tujuan dari Pengeringan dengan tidak terkena matahari langsung bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa aktif pada sampel yang tidak tahan terhadap panas. Sampel yang sudah dikeringkan, kemudian dihancurkan dengan menggunakan penggiling menjadi serbuk halus. Selanjutnya sampel diayak dan dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan mengekstraksi serbuk *Padia australis* sebanyak 2 kg dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:4 pada replikasi pertama dan 1:3 pada replikasi ke dua dan ketiga. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Gedung Bersama *Growth Center* (GC) dan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga (untuk determinasi *Padina australis*).

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik, *rotary evaporator*, seperangkat alat gelas, alat penggiling, pipet tetes, sendok *stainless*, Kiesel gel GF 254, pipa kapiler, *hot plate*, tabung reaksi, kertas saring, corong pisah dan batang pengaduk. Bahan yang digunakan antara lain ekstrak alga cokelat (*Padina australis*), etanol, HCl 2 N, NaCl, Pereaksi Mayer dan Wagner, NH₄OH 28%, methanol, air, etil asetat, Pereaksi Dragendorf, asam asetat anhidrat, H₂SO₄, n-heksan, anisaldehyd asam sulfat, HCl (p), potongan magnesium, butanol, asam asetat glacial, NaCl 10%, gelatine, kloroform, dan FeCl₃.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi *Padina australis* telah dilakukan di Fakultas Perikanan Universitas Airlangga Surabaya dan diperoleh hasil yang menyatakan bahwa alga coklat yang digunakan yaitu *Padina australis*. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah *Padina australis* (lampiran 1). Sebanyak 2 kg serbuk *Padina australis* yang diesktraksi dengan metode meserasi menggunakan pelarut etanol 96% didapatkan hasil rendemen sebanyak 1,2%.

Hasil skrining fitokimia untuk senyawa alkaloid dari *Padina australis* dengan menggunakan metode Dragendrof, Mayer dan Wagner menunjukkan terjadinya endapan. Hal

Artikel Penelitian

tersebut membuktikan bahwa sampel *padina australis* mengandung alkaloid. Pengujian selanjutnya untuk mengetahui golongan flavonoid dengan menggunakan metode Wilstater menunjukkan adanya golongan flavonoid yang ditandai dengan adanya warna merah jingga. Pengujian untuk mengetahui kandungan senyawa steroid dilakukan dengan metode Salkowski dengan hasil adanya cinci merah gelap yang menandakan kandungan senyawa steroid. Skrining senyawa terpenoid dengan metode Liberman Buchard menunjukkan adanya warna coklat kemerahan yang berarti sampel mengandung senyawa terpenoid. Skrining fitokimia dari senyawa tannin dilakukan dengan uji gelatine yang menunjukkan adanya endapan dan skrining untuk senyawa saponin dengan uji buih menunjukkan adanya buih/busa yang stabil selama kurang lebih 30 menit. (Tabel 1).

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan apakah ekstrak etanol 96% alga coklat *padina australis* dari Kepulauan Sumenep mengandung metabolit sekunder yang mempunyai banyak aktivitas farmakologi. Pengujian dilakukan dengan metode kimia secara kualitatif dan kromatografi lapis tipis.^{10, 12} Sampel yang digunakan yaitu ekstrak etanol 96% alga coklat *Padina australis* yang diperoleh dari kepulauan Sumenep dan telah dilakukan determinasi terlebih dahulu di Fakultas Perikanan Universitas Airlangga Surabaya dan hasilnya menyatakan bahwa sampel yang digunakan yaitu alga coklat *Padia australis*.

Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut dalam proses maserasi dengan alasan lebih selektif, tidak toksik, absorbsinya baik dan dapat mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur. Selain itu, etanol mempunyai sifat universal sehingga senyawa metabolit polar, semi polar dan non polar dapat tersari dengan sempurna sehingga akan lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam sel simplisia daripada pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, sehingga ekstrak yang dihasilkan akan pekat. Hasil yang diperoleh dari proses meserasi berupa ekstrak kental dengan berat 24,0888 gram. Hasil rendemen yang didapatkan sebesar 1,2044%. Menurut Iswani (2007)¹³, persentase rendemen yang dihasilkan dari ekstraksi makroalga dengan menggunakan pelarut etanol berkisar 2-3%.

Artikel Penelitian

Hasil rendemen dari penelitian berbanding lurus dengan hasil yang melakukan meserasi dengan etanol 96% didapatkan hasil rendemen sebesar 1,30%.¹⁴

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia *Padina australis*

Uji	Metode	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Dragend roff	+	Adanya endapan
	Mayer	+	Adanya endapan
	Wagner	+	Adanya endapan
Flavonoid	willstate r	+	Merah jingga
Steroid	salkwos ki	+	Adanya cincin merah gelap
Terpenoid	Liberma n burchar d	+	Coklat kemerahan
Tanin	Uji gelatin	+	Endapan
Saponin	Uji buih	+	Adanya busa stabil $\pm$ 30 menit

Perbedaan hasil rendemen ekstrak dari suatu bahan dipengaruhi oleh metode ekstraksi, ukuran simplisia, perbandingan bahan dan pelarut, jenis pelarut, waktu ekstraksi, suhu ekstraksi umur panen, dan perbedaan habitat.¹⁵ Proses ekstraksi *Padina australis* dengan pelarut berbeda yang dilakukan menghasilkan rendemen terbanyak pada ekstrak dengan pelarut polar.¹⁶ Ekstraksi meserasi bertujuan untuk menarik senyawa yang terkandung didalam tanaman alga coklat *Padina australis*. Metode meserasi merupakan proses yang menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga

Artikel Penelitian

metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.¹⁷ Setelah dilakukan maserasi didapatkan hasil ekstrak kental yang kemudian dilakukan penetapan skrining yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa pada sampel. Didapatkan hasil, bahwa ekstrak rumput laut coklat *Padina australis* dari kepulauan Pteran Madura mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, steroid, saponin, tannin dan alkaloid (Lampiran 2). Hasil tersebut sesuai dengan penelitian – penelitian yang telah dilakukan yaitu pada *Padina australis* mengandung senyawa steroid, terpenoid, polifenol, saponin, alkaloid, flavonoid, fenol hidrokuinon dan tannin yang memberikan efek antibakteri.^{10, 12, 16, 18}

Senyawa metabolit – metabolit sekunder tersebut mempunyai aktivitas farmakologi salah satunya sebagai antibakteri dengan mekanisme merusak senyawa penyusun membrane sel dari bakteri baik dengan mendenaturasi protein maupun lipid pada membrane fosfolipid sel bakteri. Kerusakan tersebut menyebabkan peningkatan permeabilitas membrane sel yang berakibat keluarnya senyawa intraseluler seperti sitoplasma.^{19, 20, 21, 22, 23, 24, 25} Selain itu kandungan metabolit sekunder dari Alga coklat juga mempunyai aktivitas antioksidan dengan menangkap senyawa radikal bebas atau dengan melindungi sel melalui penurunan aktivitas Na^+K^+ -ATPase dan menurunkan aktivitas katalase serta glutathion transferase pada tingkat jaringan dan mikrosom.²⁶ Aktivitas farmakologi lainnya adalah antiinflamasi yang ditunjukkan melalui penekanan degranulasi dari sel mast dengan menghambat antigen yang menginduksi agregasi pada reseptor IgE.²⁶ Aktivitas anti kanker juga ditunjukkan oleh kandungan dari alga coklat dengan mekanisme yang berpengaruh pada siklus sel dan proses apoptosis. Selain itu diketahui bahwa kandungan dari alga coklat dapat secara selektif menghambat aktivitas DNA polymerase.²⁶ Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan metabolit sekunder pada alga coklat sangat berguna dalam bidang kesehatan sehingga dengan adanya berbagai macam kandungan metabolit sekunder dapat dijadikan awal dari penemuan ataupun pengembangan obat/sediaan kefarmasian.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian menyatakan bahwa ekstrak etanol 96% alga coklat *Padina australis* dari kepulauan Poteran Madura mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, tannin, dan saponin. Adapun saran yang dikemukakan peneliti meliputi perlunya dilakukan penelitian lanjutan terkait potensi aktivitas farmakologis dari alga coklat *Padina australis* serta perlunya dilakukan optimasi metode ekstraksi untuk dapat mendapatkan rendmen ekstrak yang besar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada Prodi Farmasi Universitas Hang Tuah atas dukungan dana yang diberikan serta kepada Ibu Kaprodi Farmasi Universitas Hang Tuah atas kesempatan yang sudah diberikan. LPPM Universitas Hang Tuah atas bantuan dan dukungan dalam melaksanakan penelitian ini serta Bapak/Ibu dosen, staff, dan Laboran Prodi Farmasi Universitas Hang Tuah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ode dan Wasahua. Jenis-Jenis Alga Coklat Potensial Di Perairan Pantai Desa Hutumuri Pulau Ambon. Ternate. Jurnal Ilmiah agribisnis dan Perikanan (agrikan UMMU-Ternate). 2014; Volume 7 Edisi 2.
2. Nurwidodo. Pendamping Pembuatan Aneka Olahan Rumput Laut Sebagai Upaya Penguatan Ekonomi Masyarakat Kepulauan Sapeken Sumenep. Jurnal Senaspr. 2017;1-14.
3. Franklin R.K., Gaspar D.M., dan Fransine B.M. Pertumbuhan Alga Coklat *Padina australis* di Perairan Pesisir Desa Serei, Kecamatan Likupang Barat, Kabupaten Minahasa Utara. Jurnal Ilmiah Platax. 2017; 15 (2): 243-253.
4. Kalalo, J.L., Desy, M., dan Joice, R. Analisis Jenis-Jenis Pigmen Alga Coklat *Padina australis* Hauck dari Perairan Laut Sulawesi. Jurnal Pesisir dan Laut Tropis. 2014; 1(1): 8-12.
5. Handayani, S. Setia, T.M., Rahayu, S.E. Pengenalan makro alga Indonesia. Dian Rakyat. Jakarta; 2014

Artikel Penelitian

6. Rumengan et al. Antibacterial Analysis of Alga *Padina australis* Hauck in Totok Bay and Blongko Waters. Manado: Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi. 2018
7. Jeeva S., Marimuthu, J., Domettla, C., Anantham, Mahesh, M. Preliminary phytochemical studies on some selected seaweeds from Gulf of Mannar, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012: S30-S33.
8. Padua, D., Rocha, E., Gargiulo, D., Ramos, A.A. Bioactive compounds from brown seaweeds: phloroglucinol, fucoxanthin and fucoidan as promising therapeutic agents against breast cancer. *Phytochemistry Letters*. 2015: 14: 91-98.
9. Bachtiar, A. Penelusuran Sumber Daya Hayati Laut (Alga) sebagai Biotarget Industri. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Jatinagor: Universitas Padjajara; 2007.
10. Salosso, Y., Prajitno, A., Abadi, A.Z, dan Aulanni'am. 2011. Kajian Potensi *Padina australis* Sebagai Antibakteri Alami Dalam Pengendalian Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Budidaya Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. 2011;7(7): 365-369.
11. Trono, G.C., Ganzon-Fortes. *Phillippine Seaweds*. National Book Store, Lnc. Phillipine. 1998
12. Imas, dkk. Efektivitas Ekstrak *Padina australis* Sebagai Antibakteri *Echerichia coli* Penyebab Penyakit Diare. Program Studi Biologi FMIPA Universitas Pakuan; 2014.
13. Iswani, S. Proses preparasi ekstrak kasar (crude extract) etanol dari makroalga untuk uji farmakologi. *Buletin Teknologi Penelitian Akuakultur*. 2007: **6**: 57-60.
14. Putri, N. et al. Uji Aktivitas Antibakteri Alga Coklat Jenis *Padina* sp. Dari Pantai Sorido Biak Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* DAN *Shigella dysenteriae*. Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura-Papua. 2018
15. Kumar, A., Kumari, S.N., Bhargavan, D. Evaluation of in vitro antioxidant potential of etanolic extract from the leaves of *Achyranthes aspera*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2012: 5(3): 146-148.
16. Podungge, F. Kandungan Fenol, Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Padina Australia*. Skripsi, Insitut Pertanian Bogor, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Bogor; 2012

Artikel Penelitian

17. Koirewoa, Y. A., Fatimawali, Wiyono, W.I. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). Laporan Penelitian. FMIPA UNSRAT. Manado; 2012.
18. Maharany, F., Nurjanah, Suwandi, R., Anwar E., Hidayat T. Kandungan Senyawa Bioaktif Rumput Laut Padina Australis dan Eucheuma Cottonii Sebagai Bahan Baku Krim Tabir Surya. *Jurnal Jphpi*. 2017; 20 (1):11-18.
19. Juliantina, F., Dewa A.C., Bunga, N., Titis, N., Endrawati, T,B. 2010. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri gram Posistif dan Gram Negatif. hal: 10-25.
20. Gunawan, I.W.G., Bawa, I.G.A.G, dan Sutrisnayanti, N.L. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid Yang Aktif Antibakteri Pada Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn). *Jurnal Kimia*. 2008; 2(1): 31-39.
21. Mayanti T, Julaeha E, Putri Y. 2011. Isolasi dan karakterisasi senyawa antibakteri dari fraksi etil asetat kulit batang lansium domesticumcorr. cv kokossan. Universitas Padjajaran.Fakultas MIPA. Bandung; 10 – 11.
22. Madduluri, S., Rao, K.B., Sitaram, B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*: 2013; 5(4): 679-684.
23. Ahmed, B. Chemistry Of Natural Products. New Delhi: Department of Pharmaceutical Chemistry Faculty of Science Jamia Hamdard; 2007.
24. Nuria, M.C., Faizaitun, A., Sumantri. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923, *Escherichia Coli* ATCC, dan *Salmonella Typhi* ATCC 1408, *Mediagro*: 2009; 5(2): 26–37.
25. Cavalieri, S.J., Rankin I.D., Harbeck, R.J., Sautter, R.S., McCarter, Y.S., Sharp, S.E., Ortez, J.H., Spieg, C.A. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. USA: American Society for Microbiology; 2005.
26. Peng, J., Yuan, J.P., Wu, C.F., Wang, J.H. Fucoxanthine, a Marie Carotenoid Present in Brown Seaweeds and Diatoms : Metabolism and Bioactivities Relevant to Human Health. *Mar. Drugs*: 2011; 9: 1806 – 1828.