



## Optimasi Metode dan Penentuan Batas Deteksi untuk Analisis Kadar fukosantin dalam *Sargassum ilicifolium* (Turner) C.Agardh Menggunakan KLT-Densitometri

*Optimization Method and Determination of Detection Limit for Analysis Fucoxanthin in Sargassum ilicifolium (Turner) C.Agardh Using TLC-Densitometry*

Etik Wahyuningsih<sup>1\*</sup>, Verra Lissa Putri Amannillah<sup>1</sup>, Ganis Febriananda<sup>1</sup>, Zahra Nur Aliyyah<sup>1</sup>, Fathimah Az Zahra Wijatmoko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya, Surabaya

\*Corresponding author : [etik\\_wahyuningsih@fik.um-surabaya.ac.id](mailto:etik_wahyuningsih@fik.um-surabaya.ac.id)

### INFO ARTIKEL

Dikirim:  
24 Maret 2024

Direvisi:  
30 April 2024

Diterima:  
31 Mei 2024

Terbit Online:  
30 Juni 2024

### ABSTRAK

Fukosantin merupakan pigmen alami yang terdapat pada *Sargassum ilicifolium* (Turner) C.Agardh dan memiliki banyak aktivitas biologis antara lain sebagai antioksidan, imunomodulator, antikanker maupun antidiabetik. Untuk penetapan kadar fukosantin, metode analisis kromatografi lapis tipis-densitometri (KLT-Densitometri) merupakan metode yang selektif dan sederhana untuk diaplikasikan dalam penelitian ini dengan menggunakan marker fukosantin. Menentukan kondisi analisis yang optimum dan penentuan batas deteksi untuk analisis kadar fukosantin dalam *Sargassum ilicifolium* (Turner) C.Agardh menggunakan KLT-Densitometri. Penentuan kondisi optimum dilakukan dengan cara penentuan komposisi fase gerak, volume penotolan, waktu penjuhan bejana dan Panjang gelombang analisis. Penentuan batas deteksi dilakukan dengan menganalisis larutan standar pada 1-40 µg/ml. Heksana: aseton (6:4 v/v) dengan panjang gelombang 398 nm, waktu penjuhan bejana 30 menit dan volume penotolan 8 µl merupakan komposisi fase gerak terpilih karena menghasilkan pemisahan dengan puncak yang simetris dengan batas deteksi 2,5 µg/ml. Pada penelitian ini telah diperoleh kondisi optimum dan batas deteksi untuk analisis fukosantin. Kondisi optimum yang diperoleh dapat dilakukan validasi metode analisis. Fukosantin tidak stabil selama penyimpanan sehingga larutan baku dan sampel sebaiknya dibuat baru ketika dilakukan analisis.

**Kata Kunci:** Fukosantin, Optimasi metode analisis, Limit deteksi, KLT-Densitometri

### ABSTRACT

*Fucoxanthin is a naturally pigment in Sargassum ilicifolium (Turner) C. Agardh that have many biology activity including antioxidant, immunomodulator, anticancer and antidiabetic. To determine fucoxanthin, a selective and simple Thin Layer chromatography-Densitometry (TLC- Densitometry) method has been applied and fucoxanthin was used as phytochemical marker in this research. Objective: To get the optimum condition of the separation and determination of detection limit for analysis fucoxanthin in Sargassum ilicifolium (Turner) C. Agardh using TLC- Densitometry. Method: Optimum condition were investigated in the variation of mobile phase composition, volume of the spot, the TLC chamber's saturation time and analytical wavelength. Determination of the detection limit was done by analysing the fucoxanthin standard 1-40 µg/ml. Result: a hexane: acetone (6:4 v/v) with a wavelength of 398 nm, saturation time was 30 minutes and spot volume was 8 µl were selected with symmetrical peak shape and good separation and detection limit was 2.5 µg/ml. Conclusion: in this research, the optimum condition and detection limit have been proposed and successfully applied for validation method analysis. Fucoxanthin became unstable when stored, therefore to maintain stability, fucoxanthin standard solution and sample should be prepared freshly.*

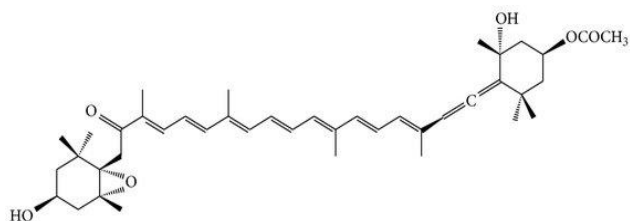
**Keywords:** *Fucoxanthin, Optimization of analytical Method, Detection limit, TLC-Densitometry*

### PENDAHULUAN

*Sargassum sp* merupakan jenis rumput laut yang banyak ditemukan di perairan Indonesia. *Sargassum sp.* mengandung klorofil serta golongan karotenoid polar (xantofil) dan non polar (karoten) (Limantara & Heriyanto, 2012) merupakan salah satu jenis rumput laut coklat yang memiliki banyak aktivitas biologis antara lain sebagai antioksidan, antiviral, antikanker, antibakteri maupun sebagai imunomodulator (Biradar, 2010; de Los Reyes Arguelles & Sapin, 2020; Kordjazi et al., 2019; Namvar et al., 2014; Noviendri et al., 2021; Sodik et al., 2022; Stiger-Pouvreau et al., 2023).

Komponen bioaktif *Sargassum sp.* telah banyak dieksplorasi dan ditemukan banyak mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, fenolik terpenoid, saponin, alkaloid, dan sterol serta mengandung senyawa bioaktif seperti alginat, fukosantin, fukoidan, dan floratanin (DLR Arguelles et al., 2020.; Han Nguyen, 2012; Nisa et al., 2020; Sabeena Farvin & Jacobsen, 2013). *Sargassum ilicifolium (Turner) C. Agardh* merupakan jenis rumput laut coklat yang telah banyak dieksplorasi mengandung komponen aktif (Puspita et al., 2020; Stiger- Pouvreau et al., 2023) dan potensial untuk dikembangkan industri farmasi sebagai obat, bahan baku kosmetik maupun sebagai pigmen alami.

Fukosantin merupakan pigmen alami yang mengandung lebih dari 10% dari total karotenoid alami (Abdullah et al., 2021) dan termasuk dalam komponen terpenoid (Mikami & Hosokawa, 2013). Fukosantin merupakan senyawa berwarna dengan rumus molekul C<sub>42</sub>H<sub>58</sub>O<sub>6</sub> dan berat molekul 658,9 g/mol (PubChem, 2021). Fukosantin memiliki struktur unik dengan ikatan alenik, 5,6-monoepoksida dan 9 ikatan rangkap terkonjugasi (Miyashita et al., 2020). Fukosantin merupakan asam lemah dengan nilai pKa 14,47 dan log P sebesar 7,54 (Ma et al., 2020). Ikatan rangkap yang dimiliki fukosantin rentan terhadap panas, oksigen, paparan cahaya, dan pH (Ahmed et al., 2022). Struktur kimia fukosantin dapat dilihat dalam Gambar 1.1. Fukosantin dalam *Sargassum sp.* memiliki bioaktivitas sebagai antikanker, antioksidan, hepatoprotektif, antiinflamasi, antimalaria, antidiabetik, dan antiobesitas (Oliyaei & Moosavi-Nasab, 2021). Pengembangan metode analisis komponen bahan aktif dalam bahan alam, ekstraksi dan purifikasi memegang peranan penting. Metode ekstraksi *Sargassum sp.* telah banyak dikembangkan dengan berbagai pelarut seperti metanol-HCl (Wahyuningsih et al., 2024), pelarut etil asetat, diklormetan dan dietileter (Dileepkumar et al., 2018). Ekstraksi dengan menggunakan pelarut organik tersebut bersifat toksik sehingga pelarut etanol masih merupakan



**Gambar 1.** Struktur Kimia Fukosantin (PubChem, 2021)

pelarut pilihan disamping mudah didapat, pelarut etanol relatif lebih aman dan tidak toksik dibanding dengan metanol, etil asetat, diklormetan dan dietil eter. Kandungan senyawa dalam ekstrak *Sargassum* sp sangatlah kompleks menyebabkan interferensi sehingga diperlukan purifikasi untuk menghilangkan efek matrik. Metode purifikasi fukosantin yang telah dikembangkan antara lain partisi dengan menggunakan pelarut metanol, air dan heksan (Nisa et al., 2020), *solid phase extraction hydrophilic lipophilic balance (HLB-SPE)* (Zhao et al., 2022) dan kromatografi kolom (Jaswir et al., 2011). Purifikasi dengan kromatografi merupakan metode yang umum digunakan, mudah diaplikasikan dan biaya yang relatif murah sehingga dalam penelitian ini purifikasi dilakukan dengan kromatografi kolom.

Penetapan kadar fukosantin dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Crupi et al., 2013; Wrightl, 1987), HPTLC (Wrightl, 1987), kromatografi Lapis Tipis (KLT)-Densitometri (Piovan et al., 2014) dan Spektrofotometri UV-Vis (Sulistiyani et al., 2021). Kromatografi Lapis tipis (KLT) densitometer merupakan instrumen yang umum digunakan dalam penetapan kadar marker dalam bahan alam. Dibandingkan dengan KCKT dan HPTLC, KLT-Densitometri merupakan metode yang banyak dikembangkan dengan merupakan metode yang selektif dan akurat serta biaya yang lebih murah.

Dalam pengembangan metode analisis untuk memperoleh hasil yang akurat, validasi metode memegang peranan penting sehingga diperlukan optimasi metode untuk mendapatkan kondisi yang optimum sebelum dilakukan validasi metode (ICH, 2016). Penelitian ini akan dilakukan optimasi metode analisis dengan metode KLT- densitometri meliputi pemilihan fase gerak, penentuan jumlah totalan, pengaruh penjumlahan bejana serta dilakukan uji

selektivitas dan penetapan batas deteksi untuk analisis penetapan kadar fukosantin dalam *Sargassum ilicifolium (Turner) C.Agardh* menggunakan KLT- Densitometri.

## METODE PENELITIAN

### Sampel

Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah Rumput laut coklat jenis *Sargassum ilicifolium (Turner) C.Agardh* yang diperoleh dari Pantai Sebang, Desa Tarahan,

Kecamatan Katibung, Kabupaten Lampung Selatan, Lampung. Kemudian dilakukan determinasi di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rotary Vacuum Evaporator (Heidolph, Schwabach, Germany), Chamber KLT, lampu Ultra Violet (Camag), pipa kapiler 2 $\mu$ l (Camag), Chamber KLT, plat KLT Silika Gel 60 F254 (Supelco), Densitometer (CAMAG), neraca analitik (Shimadzu), mikro pipet ( Socorex), botol vial, cawan porselin, pipet tetes, pipet volume, corong kaca, labu ukur dan alat gelas (IWAKI).

### Metode

#### Pembuatan larutan baku induk fukosantin

Pembuatan larutan baku induk standar fukosantin disiapkan dengan menimbang fukosantin 2 mg (99%) dan dilarutkan dengan 20 ml metanol pro analisis (v/v) dalam labu takar 20,0 ml (100 ppm). Konsentrasi fukosantin 1,0; 1,5; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 25,0; 30,0; 35,0 dan 40,0  $\mu$ g/ml disiapkan dengan melarutkan baku induk masing-masing 50 $\mu$ l; 75  $\mu$ l; 125  $\mu$ l; 250  $\mu$ l; 500  $\mu$ l; 1000  $\mu$ l; 1250  $\mu$ l; 1500  $\mu$ l; 1750  $\mu$ l; 2000  $\mu$ l dan dilarutkan dalam metanol pro analisis (v/v) dalam labu takar 5,0 ml (1;1,5;2;2,5;5;10;20;25;30;35;40 ppm).

#### Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi fukosantin mengacu pada metode Jawir et al yang telah dimodifikasi. Sampel *Sargassum ilicifolium (Turner) C.Agardh* yang disimpan pada suhu -20 °C dilakukan thawing hingga es mencair serta dipisahkan dari pengotornya kemudian dilakukan pemotongan sampel sebelum di maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan menimbang

200 gram sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 96% 2 L selama 3 x 24 jam. Hasil

perendaman selanjutnya dilakukan evaporasi dengan rotary evaporator pada suhu 35°C. Hasil ekstrak kasar kemudian ditimbang.

#### Purifikasi Fukosantin

Metode purifikasi fukosantin mengacu pada metode Sulistyani et al. dengan menggunakan kolom terbuka. Purifikasi dilakukan dengan menimbang sebesar 0,5 gram ekstrak dimasukkan dalam kolom terbuka kemudian dieluasi dengan pelarut n-heksana: etil asetat: metanol (6: 3: 1, v/v/v) untuk mendapatkan fraksi fukosantin dengan warna orange kemerahan. Hasil purifikasi kemudian dikeringkan dengan gas nitrogen dan disimpan pada suhu 4°C.

#### Pembuatan Fase Gerak

Optimasi kondisi KLT dilakukan dengan membuat fase gerak dalam berbagai komposisi seperti tertera pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Variasi komposisi fase gerak yang diuji untuk mendapatkan kondisi

NO	Komposisi fase gerak	Perbandingan volume	Referensi
1	Heksana: aseton	5 : 5 % v/v	-
2	Aseton: heksan	4: 6 % v/v	-
3	Aseton : heksana	6: 4 % v/v	(Jaswir et al., 2011)
4	Heksana :etil asetat : metanol	6 : 3 :1 % v/v	(Sulistyani et al., 2021)

#### Analisa Data

##### Optimasi kondisi analisis

Optimasi kondisi analisis dilakukan dengan cara mengubah komposisi fase gerak, menentukan panjang gelombang maksimum

untuk pengamatan nada, optimasi waktu penjujukan bejana selama 15 - 60 menit dan optimasi volume penotolan sebanyak 2 - 8 µL pada plat KLT. Parameter yang diamati dalam pemilihan kondisi optimal adalah faktor retardasi (Rf), bentuk puncak dan resolusi (Rs) terbaik. Rs dihitung menggunakan rumus matematika sebagai berikut

$$R_s = \frac{2z(Z_a - Z_b)}{[W_a + W_b]}$$

R<sub>s</sub> = resolusi

R<sub>f1</sub> = faktor retardasi senyawa 1

R<sub>f2</sub> = faktor retardasi senyawa 2

#### Uji batas deteksi

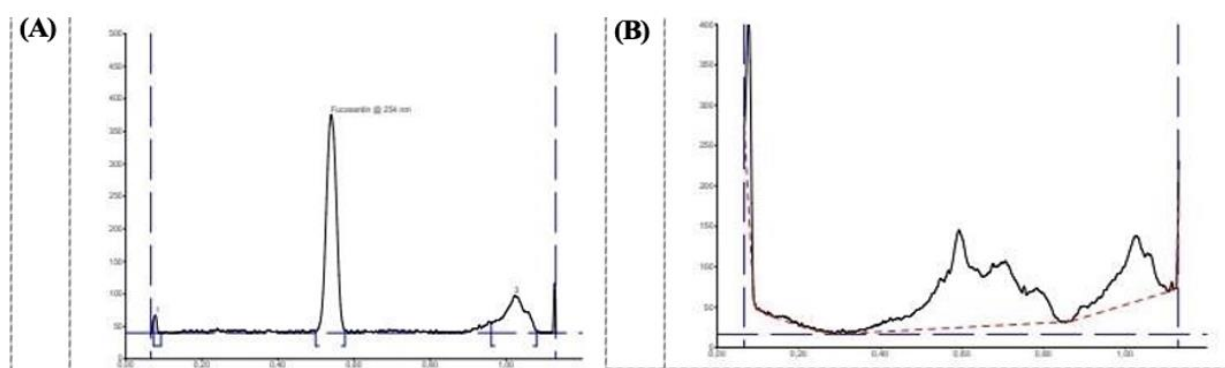
Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi dalam kromatografi dapat didefinisikan sebagai Signal to noise ratio, dengan perbandingan 2:1 – 3:1 (ICH, 2016).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

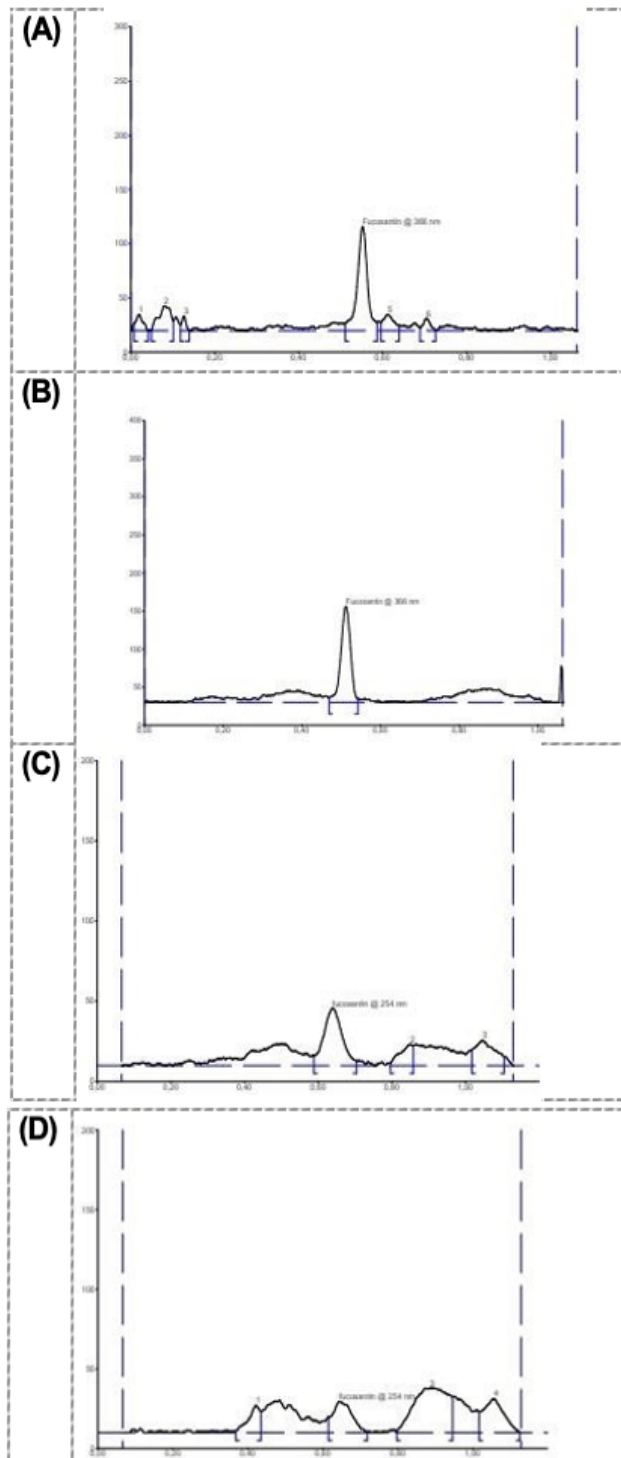
### Optimasi kondisi analisis

Pada penelitian ini, ekstraksi dilakukan pada sampel segar karena fukosantin yang tidak stabil terhadap pengaruh suhu, panas maupun oksidan. Dilihat dari struktur kimianya fukosantin mengandung ikatan rangkap yang tidak stabil. Purifikasi fukosantin dilakukan untuk menghilangkan efek matrik karena *Sargassum ilicifolium* (Turner) C.Agardh mengandung komponen matrik yang kompleks sehingga pemisahan tidak selektif. Hasil densitogram ekstrak sebelum purifikasi dan standar fukosantin dapat dilihat pada gambar 2.

Berdasarkan gambar 2, densitogram pada sampel ekstrak tidak terjadi pemisahan yang selektif sehingga dilakukan purifikasi terhadap ekstrak.



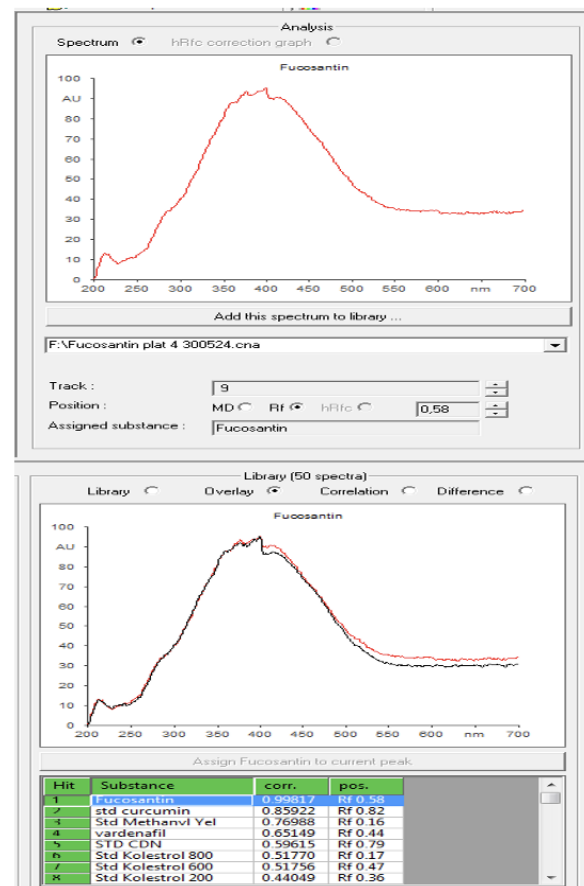
**Gambar 2.** Densitogram A. fukosantin standar B. ekstrak *Sargassum ilicifolium* (Turner) C.Agardh pada fase gerak n-heksana: etil asetat: metanol (6: 3: 1, v/v) pada Panjang gelombang 398 nm



**Gambar 3.** Hasil scan densitometer dengan fase gerak terpilih (n-heksana: etil asetat: metanol, 6:3:1 v/v/v), sampel dan standar pada totolan 8 µl A standar fukosantin 20 ppm pada 398 nm, B. fraksi pada 398 nm C. standar fukosantin 5 ppm pada 247 nm D. fraksi pada 247 nm

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan terhadap variasi komposisi fase gerak, diperoleh data pada Tabel 2. Komposisi fase gerak 1 menunjukkan nilai Rf 0,9 akan tetapi noda

fukosantin fronting dengan nilai Rf yang tidak memenuhi syarat validasi (Rf 0,2- 0,8) (ICH, 2016; Yuwono & Indrayanto, 2005) sehingga mempengaruhi hasil analisis. Komposisi fase gerak 2 menunjukkan nilai Rf 0,87 noda fukosantin simetris namun nilai Rf yang tidak memenuhi syarat validasi. Komposisi fase gerak 3 menunjukkan nilai Rf 0,52 menunjukkan fukosantin yang simetris dan memenuhi syarat validasi. Komposisi fase gerak 4 menunjukkan nilai Rf 0,42 dengan puncak fukosantin yang simetris dan memenuhi syarat validasi. Komposisi fase gerak 3 menggunakan fase gerak yang sederhana terdiri dari 2 pelarut dibandingkan dengan fase gerak 4, sehingga fase gerak 3 ini dipilih dan digunakan untuk proses analisis selanjutnya. Hasil optimasi scan densitometer pemilihan fase gerak no 3 dengan berbagai panjang gelombang dapat dilihat pada gambar 2. Fukosantin merupakan senyawa yang berfluoresens. Pengamatan pada panjang gelombang 398 nm, area yang dihasilkan puncak fukosantin tinggi dan puncak pengganggu yang dihasilkan sangat sedikit sehingga panjang gelombang terpilih yang digunakan yaitu 398 nm



**Gambar 4.** Scan Densitometer fukosantin standart dan sampel pada Panjang gelombang 398 nm

**Tabel 4.** Uji spiking fraksi hasil purifikasi dengan standar fukosantin pada berbagai konsentrasi.

Track	Analit	Konsentrasi Standart adisi	Volume totalan	Start position	Start height	End position	End Height	Area fukosantin
1	Standar	5 ppm	4 µL	0,54	6,6	0,59	3,0	1235,0
2	fraksi	-	4 µL	0,54	10,9	0,63	6,6	1901,5
3	Spike fraksi-standar	5 ppm	4 µL	0,54	11,9	0,58	9,4	2653,0
4	Spike fraksi-standar	6,6ppm	4 µL	0,54	14,2	0,62	10,1	2957,5
5	Spike fraksi-standar	8 ppm	4 µL	0,53	13,1	0,61	9,9	3111,8

sedangkan pada panjang gelombang 247 nm dihasilkan puncak yang lebih rendah. Hasil scan Panjang gelombang terpilih untuk sampel dan fraksi pada Panjang gelombang 398 nm dapat dilihat pada gambar 4

Berdasarkan gambar 4 menunjukkan bahwa spektra dari standar fukosantin dengan fraksi dari ekstrak 96% Sargassum ilicifolium (Turner) C.Agardh adalah indentik dengan Mach Factor 0,998. Penjenuhan bejana dengan baik diperlukan supaya proses elusi dan pemisahan sempurna. Hasil optimasi waktu penjenuhan bejana tertera pada Tabel 2. Dari hasil optimasi diperoleh waktu penjenuhan bejana dapat mempengaruhi Rf yang menunjukkan ketidakstabilan Rf suatu senyawa setelah dielusi pada bejana yang tidak dilakukan penjenuhan. Waktu penjenuhan bejana yang optimal pada penelitian ini yaitu minimal 30 menit karena Rf stabil setelah 30 menit.

**Tabel 2.** Data hasil optimasi waktu penjenuhan bejana

Waktu penjenuhan	Rf fukosantin standar
10	0,31
15	0,42
30	0,52
60	0,52

Hasil optimasi volume penotolan tertera pada Tabel 3. Berdasarkan hasil yang diperoleh, volume penotolan yang memberikan bentuk puncak simetris yaitu 6 µL dan 8 µL. Pada volume penotolan 2 µL dan 4 µL, puncak mengalami fronting dengan nilai area yang kecil. Hal ini dapat disebabkan volume penotolan dalam konsentrasi yang kecil.

**Tabel 3.** Data hasil optimasi volume penotolan

Konsentrasi	Volume	Area	Puncak
5 ppm	2	-	Tidak terdeteksi
5 ppm	4	59,55	Tailing
5 ppm	6	522,2	Tailing
5 ppm	8	1000,5	Simetris

**Uji selektivitas**

Selektivitas dilakukan dengan melakukan uji spiking fraksi hasil purifikasi dengan standar fukosantin pada berbagai konsentrasi. Hasil scanning densitometer pada Panjang gelombang 398 nm hasil penotolan standar fukosantin dan fraksi adisi standar dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 5.



**Gambar 5.** Hasil KLT standar fukosantin, sampel dan sampel adisi standar pada berbagai konsentrasi.

**Tabel 5.** Uji penentuan limit deteksi fukosantin

Track	Konsentrasi	Volume totalan	Start position	Start height	End position	End Height	Area	Analit
1	1 ppm	4 $\mu$ L	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak terdeteksi
2	1,5 ppm	4 $\mu$ L	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak terdeteksi
3	2,5 ppm	4 $\mu$ L	0,55	6,3	0,63	3,2	259,3	Fukosantin
4	5 ppm	4 $\mu$ L	0,56	6,6	0,63	3,0	1235,0	Fukosantin
5	10 ppm	4 $\mu$ L	0,55	8,5	0,63	4,2	2043,1	Fukosantin
6	20 ppm	4 $\mu$ L	0,55	10,5	0,63	8,0	2732,9	Fukosantin
7	25 ppm	4 $\mu$ L	0,55	13,5	0,63	8,9	3327,5	Fukosantin
8	30 ppm	4 $\mu$ L	0,55	11,8	0,63	7,2	3498,6	Fukosantin
9	35 ppm	4 $\mu$ L	0,54	11,0	0,63	7,7	3866,6	Fukosantin
10	40 ppm	4 $\mu$ L	0,55	13,6	0,63	10,4	4294,0	Fukosantin

Berdasarkan gambar 5 dan tabel 4 menunjukkan bahwa hasil fraksi menunjukkan noda dengan Rf yang sama dengan standar fukosantin dan tidak ditemukan interferensi matriks.

#### Uji limit deteksi

Uji limit deteksi dilakukan dengan menotolkan fukosantin sebanyak 10 konsentrasi yaitu 1 ppm, 1,5 ppm, 2,5 ppm; 5 ppm; 10 ppm; 15 ppm; 20 ppm; 25 ppm; 30 ppm; 35 ppm dan 40 ppm;. Hasil scanning densitometer uji limit deteksi fukosantin dapat dilihat pada tabel 5.

Berdasarkan tabel 5 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1 dan 1,5  $\mu$ g/ml tidak terdeteksi adanya fukosantin dan fukosantin terdeteksi pada konsentrasi 2,5  $\mu$ g/ml sehingga limit deteksi fukosantin adalah 2,5  $\mu$ g/ml.

#### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil fraksi ekstrak etanol 96% *Sargassum ilicifolium* (Turner) C. Agardh memberikan hasil pemisahan yang baik dengan nilai Rf sama dengan Rf standar pembandingan fukosantin. Komposisi fase gerak terpilih adalah Heksana: aseton (6:4 v/v) dengan panjang gelombang 398 nm, waktu penjuanan bejana 30 menit dan volume penotolan 8  $\mu$ l karena menghasilkan pemisahan dengan puncak yang simetris dengan batas deteksi 2,5  $\mu$ g/ml. Pada penelitian ini telah diperoleh kondisi optimum dan batas deteksi untuk analisis fukosantin. Kondisi optimum yang digunakan untuk validasi metode analisis. Fukosantin tidak stabil selama penyimpanan sehingga larutan baku dan sampel sebaiknya dibuat baru ketika dilakukan analisis.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium S1 Farmasi Universitas Muhamamdiyah Surabaya yang menyediakan fasilitas laboratorium dalam penelitian ini dan Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah menyediakan instrument KLT-Densitometer.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Nurjanah, N., & Irma Suryani Nasution, A. (2021). Karakteristik Fraksi Aktif Biopigmen Fukosantin Rumput Laut Cokelat sebagai Antioksidan dan UV-protector. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 131–147. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i1.35411>
- Ahmed, S. A., Mendonca, P., Elhag, R., & Soliman, K. F. A. (2022). Anticancer Effects of Fucoxanthin through Cell Cycle Arrest, Apoptosis Induction, Angiogenesis Inhibition, and Autophagy Modulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24). <https://doi.org/10.3390/ijms232416091>
- Biradar, P. (2010). Immunomodulatory activities of ethyl acetate extracts of two marine sponges *Gelliodes fibrosa* and *Tedania anhelans* and brown algae *Sargassum ilicifolium* with reference to phagocytosis. In *Article in Research Journal of Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*. <https://www.researchgate.net/publication/287857691>

- ICH, M. (2016). Q7 Good Manufacturing Practice Guidance for Active Pharmaceutical Ingredients Guidance for Industry. Diakses April 2024, pada <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>  
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>
- Crupi, P., Toci, A. T., Mangini, S., Wrubl, F., Rodolfi, L., Tredici, M. R., Coletta, A., & Antonacci, D. (2013). Determination of fucoxanthin isomers in microalgae (*Isochrysis* sp.) by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector multistage mass spectrometry coupled with positive electrospray ionization. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 27(9), 1027–1035. <https://doi.org/10.1002/rcm.6531>
- de Los Reyes Arguelles, E., & Sapin, A. B. (2020). Bioactive properties of *Sargassum siliquosum* J. Agardh (Fucales, Ochrophyta) and its potential as source of skin-lightening active ingredient for cosmetic application. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(7), 51–58. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2020.10707>
- Dileepkumar, V., Misra, S., Rao Mutheneni, S., Srinivasa Rao, M., Sugnana Kumari, S., & Savarapu Sugnana Kumari, C. (2018). Evaluation of different solvent extracts of *Sargassum wightii* (brown algae) for its antifungal efficacy against silkworm pathogens. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(3), 1125–1130. <https://www.researchgate.net/publication/325710695>
- DLR Arguelles, E., Laurena, A., & Martinez-Goss, M. R. (2020). Antibacterial activity, total phenolic content and antioxidant capacity of a green *Desmodesmus* sp. (U-AU2) from Los Bonas. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(7), 51–58. <https://www.researchgate.net/publication/321796303>
- Etik Wahyuningsih, Nurhayati, R., & Putri, A. K. (2024). The Effect of Chloride Acid Concentration to The Phenolic Compound and The Antioxidant Activity in Methanol Extract of *Sargassum oligocystum*. *Jurnal Ilmiah Sains*, 80–86. <https://doi.org/10.35799/jis.v24i1.53431>
- Han Nguyen. (2012). Antioxidative, anticholinesterase and antityrosinase activities of the red alga *Grateloupia lancifolia* extracts. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 11(39). <https://doi.org/10.5897/ajb11.2988>
- Jaswir, I., Noviendri, D., Salleh, H. M., Taher, M., & Miyashita, K. (2011). Isolation of fucoxanthin and fatty acids analysis of *Padina australis* and cytotoxic effect of fucoxanthin on human lung cancer (H1299) cell lines. *African Journal of Biotechnology*, 10(81), 18855–18862. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2765>
- Kordjazi, M., Etemadian, Y., Shabanpour, B., & Pourashouri, P. (2019). Chemical composition antioxidant and antimicrobial activities of fucoidan extracted from two species of brown seaweeds (*Sargassum ilicifolium* and *S. angustifolium*) around Qeshm Island. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 18(3), 457–475. <https://doi.org/10.22092/IJFS.2018.115491>
- Limantara, L., & Heriyanto, D. (2012). Studi komposisi pigmen dan kandungan fukosantin rumput laut cokelat dari Perairan Madura dengan kromatografi cair kinerja tinggi. *Ilmu kelautan : Indonesian Journal of Marine Sciences*, 15(1), 23–32.
- Ma, Z., Zhao, Y., Khalid, N., Shu, G., Neves, M. A., Kobayashi, I., & Nakajima, M. (2020). Comparative study of oil-in-water emulsions encapsulating fucoxanthin formulated by microchannel emulsification and high-pressure homogenization. *Food Hydrocolloids*, 108(March), 105977. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105977>
- Nisa, A. A., Sedjati, S., & Yudiati, E. (2020b). Quantitative fucoxanthin extract of tropical *Padina* sp. And *Sargassum* sp. (Ochrophyta) and its' radical scavenging activity. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 584(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/584/1/012044>



- Noviendri, D., Fithriani, D., & Hasrini, R. F. (2021). Fucoxanthin, A Xanthophyll from Macro- And Microalgae: Extraction Techniques, Bioactivities and Their Potential Application in Nutra- And Cosmeceutical Industries. *E3S Web of Conferences*, 232. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202123203010>
- Oliyaei, N., & Moosavi-Nasab, M. (2021). Ultrasound-assisted extraction of fucoxanthin from *Sargassum angustifolium* and *Cystoseira indica* brown algae. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(11), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15929>
- Piovan, A., Filippini, R., Paoli, M. De, & Bresin, B. (2014). TLC densitometric method for the preliminary evaluation of fucoxanthin-based products. *Natural Product Research*, 28(14), 1111–1115. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.915830>
- Mikami, K., & Hosokawa, M. (2013). Biosynthetic pathway and health benefits of fucoxanthin, an algae-specific xanthophyll in brown seaweeds. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(7), 13763–13781 <https://doi.org/10.3390/ijms140713763>
- Miyashita, K., Beppu, F., Hosokawa, M., Liu, X., & Wang, S. (2020). Nutraceutical characteristics of the brown seaweed carotenoid fucoxanthin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 686(April), 108364. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108364>
- Namvar, F., Baharara, J., & Mahdi, A. A. (2014). Antioxidant and anticancer activities of selected persian gulf algae. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 29(1), 13–20. <https://doi.org/10.1007/s12291-013-0313-4>
- Nisa, A. A., Sedjati, S., & Yudiati, E. (2020a). Quantitative fucoxanthin extract of tropical *Padina* sp. And *Sargassum* sp. (Ocrophyta) and its' radical scavenging activity. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 584(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/584/1/012044>
- Nisa, A. A., Sedjati, S., & Yudiati, E. (2020b). Quantitative fucoxanthin extract of tropical *Padina* sp. And *Sargassum* sp. (Ocrophyta) and its' radical scavenging activity. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 584(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/584/1/012044>
- PubChem. (2021). Fucoxanthin. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281239>
- Puspita, M., Setyawidati, N. A. R., Stiger-Pouvreau, V., Vandanjon, L., Widowati, I., Radjasa, O. K., Bedoux, G., & Bourgougnon, N. (2020). Indonesian *Sargassum* species bioprospecting: potential applications of bioactive compounds and challenge for sustainable development. *Advances in Botanical Research*, 95, 113–161. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.12.002>
- Sabeena Farvin, K. H., & Jacobsen, C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1670–1681. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.078>
- Sodik, V., Tamat, S., Suwarno, T., & Noviendri, D. (2022). Ekstraksi dan purifikasi fukosantin dari rumput laut coklat *Sargassum* sp. Sebagai antioksidan. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekes*