

Metabolite Profile of Marine Sponge (*Stylissa* sp.) Lipid Extract and Its Effect on Bacterial Skin Infection

Farreh Alan Maulana^{1,2}, Ni Wayan Putri Utami¹, Ervina Handayani¹, Mila Mayanti Kabir¹, Baiq Putri Maharani Bine Inggit¹, Kukuh Waseso Jati Pangestu², Rizqa Fersiyana Deccati¹, Ni Made Amelia Ratnata Dewi¹, Anggit Listyacahyani Sunarwidhi^{1,2*}

¹Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, University of Mataram, Mataram, West Nusa Tenggara, Indonesia;

²Bioscience and Biotechnology Research Centre, University of Mataram, Mataram, West Nusa Tenggara, Indonesia;

Article History

Received : October 20th, 2024

Revised : November 10th, 2024

Accepted : November 28th, 2024

*Corresponding Author: **Anggit Listyacahyani Sunarwidhi**,
Department of Pharmacy,
Faculty of Medicine and Health
Sciences, University of
Mataram, Mataram, Indonesia;
Email:
anggit.sunarwidhi@unram.ac.id

Abstract: UV radiation from sunlight can induce the formation of free radicals, which can disrupt cellular homeostasis or DNA by triggering inflammatory signal transduction. The occurrence of inflammation in the skin can be aggravated by the presence of the bacterium *Staphylococcus aureus*. Previous studies have shown that the marine sponge *Stylissa* sp. contains an abundance of fatty acids and lipids compared to other species. Although *Stylissa* sp. has great potential for health applications, research on the bioactivity of lipid and fatty acid compounds from this sponge remains limited. Therefore, this study aims to explore the lipid content of *Stylissa* sp. as an alternative source of antibacterial agents against pathogens responsible for photoaging. The metabolite profiling of the extract was conducted using GC-MS, while the antibacterial activity was performed using the Kirby-Bauer method. Based on GC-MS profiling results, six compounds were identified in the lipid extract of *Stylissa* sp. namely palmitic acid, butyl glycol acetate, n-eicosylcyclohexane, isopropyl laurate, oleic acid, and 1-tetradecanol. Antibacterial evaluation of *Stylissa* sp. lipid extract at concentrations of 25%, 75%, and 100% showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, with inhibition zone diameters of 1.83, 2.17, and 2.92 mm, respectively. The results in this study have shown that the lipid extract of *Stylissa* sp. contains lipid compounds with potential anti-bacterial activity towards *S. aureus*. Future research to isolate unsaturated fatty acid compounds from the lipid extract of *Stylissa* sp. to achieve higher antibacterial activity is recommended.

Keywords: Fatty acid, *Stylissa* sp., Skin infection, *Staphylococcus aureus*.

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara dengan iklim tropis yang memiliki tingkat paparan sinar ultraviolet (UV) yang tinggi sepanjang tahun. Sinar UV dapat menyebabkan kerusakan kulit dengan merangsang pembentukan radikal bebas sehingga mempercepat proses penuaan

kulit (Bosch *et al.*, 2015; Lestari *et al.*, 2021). Radiasi UV dari sinar matahari dapat menginduksi pembentukan radikal bebas yang dapat mengganggu homeostasis seluler atau DNA dengan memicu transduksi sinyal inflamasi (Diba *et al.*, 2023; Putranti & Sistina, 2021). Terjadinya inflamasi pada kulit dapat diperparah dengan adanya paparan bakteri

Staphylococcus aureus.

S. aureus merupakan bakteri gram positif alami yang ada di tubuh manusia termasuk kulit. Bakteri ini memproduksi berbagai toksin seperti toksin eksfoliatif dan superantigen *Toxic Shock Syndrome Toxin* (TSST), dimana ketika toksin ini dilepaskan pada kulit akan menyebabkan dehidrasi kulit, jerawat dan berakhir menjadi kondisi photoaging (Oktarina *et al.*, 2017; Vonthron-Sénécheau, 2016). Mengingat dampak negatif dari paparan *S. aureus* terhadap kesehatan kulit, maka penting untuk mengembangkan strategi pencegahan photoaging melalui aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.

Kulit yang mengalami photoaging diketahui memiliki kadar lipid yang rendah sehingga menurunkan ikatan intraselular lipid. (Gilda *et al.*, 2024; Horrobin, 1989). Suplementasi dengan asam lemak dan sterol terbukti dapat memengaruhi proses penuaan kulit. Begitupula aplikasi topikal asam lemak telah menunjukkan potensi dalam perawatan kulit yang mengalami photoaging (Latreille *et al.*, 12 C.E.; Tanaka *et al.*, 2017). Selain itu, asam lemak juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak rantai peptida penyusun peptidoglikan yang mengakibatkan dinding sel bakteri menjadi lisis sehingga bakteri tidak mampu bertahan hidup terhadap pengaruh lingkungan luar (Maromon *et al.*, 2020; Sulastris *et al.*, 2016). Sehingga diperlukan alternatif perawatan kulit yang bersumber dari bahan baku lipid dan kaya akan senyawa asam lemak.

Spons laut adalah kelompok biota laut yang dapat ditemukan pada kedalaman antara perairan dangkal hingga 8.000 meter (Marzuki, 2018). Salah satu spesies spons laut, yaitu *Stylissa sp.* banyak dijumpai di Pantai Lombok Utara, Nusa Tenggara Barat, Indonesia (Sunarwidhi *et al.*, 2021). Spons laut memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap kondisi ekstrim yang disebabkan oleh perubahan iklim dan paparan sinar ultraviolet (UV). Fluktuasi kondisi lingkungan habitat spons laut dapat memengaruhi profil metabolit dalam spons laut, termasuk asam lemak (Bennett *et al.*, 2018). Lipid dan asam lemak merupakan senyawa yang bersifat nonpolar dan umumnya volatil, dapat dianalisis secara efektif menggunakan metode *Gas Chromatography-*

Mass Spectrometry (GC-MS) (Botić, T., Cör *et al.*, 2015; Niemi *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian Bennett *et al.*, (2018) membuktikan bahwa *Stylissa sp.* memiliki kandungan asam lemak dan lipid dengan kelimpahan paling tinggi yaitu 159 mg/g dibandingkan dengan tiga jenis spons yang diteliti yaitu *Carteriospongia foliascens*, *Cymbastela coralliophila*, dan *Rhopaloeides odorabile*. Namun, penelitian mengenai aktivitas senyawa lipid dan asam lemak dari spons laut *Stylissa sp.* masih terbatas meskipun memiliki potensi yang besar.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi kandungan lipid spons laut *Stylissa sp.* sebagai sumber alternatif agen antibakteri terhadap patogen penyebab infeksi dan inflamasi kulit yaitu *S. aureus*. Penelitian ini dapat memberikan informasi terkait profil metabolit spons laut *Stylissa sp.* serta memberikan data ilmiah terkait aktivitas antibakteri ekstrak lipid *Stylissa sp.* yang dapat menjadi salah satu acuan penelitian bahan laut selanjutnya.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas laboratorium (Iwaki®, Indonesia), bunsen, pinset, pisau, blender, *Laminar Air Flow* (LAF), mikropipet, ose, spatula besi, sonikator, spreader, sentrifus, falcon tube 50 mL (Iwaki®, Indonesia), timbangan analitik (Ohaus®, Indonesia), cawan porselen, waterbath (Labnet, USA), kapas dan kasa steril, autoklaf, termometer, GC-MS QP2010 ULTRA Shimadzu dan vial. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spons laut *Stylissa sp.*, akuades, aluminium foil, alcohol 70%, blue dan yellow tip, kloroform p.a, kertas saring, natrium agar, dan media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Sampling, Ekstraksi dan Profiling Asam Lemak dengan GC-MS

Spons laut (*Stylissa sp.*) dikoleksi dari Pantai Lendang Luar Lombok Utara NTB kemudian ditransfer ke Pusat Unggulan Biosains dan Bioteknologi (PUIBB) Universitas Mataram. *Stylissa sp.* dibilas dan dibersihkan dengan air mengalir sebanyak 3 kali bilasan. Spons yang sudah bersih lalu dipotong menjadi ukuran yang

lebih kecil kemudian ukuran spons dihomogenkan dengan cara diblender. Ekstraksi lipid dilakukan berdasarkan modifikasi dari penelitian Axelsson & Gentili, (2014) dimana spons yang telah halus ditambahkan dengan campuran kloroform, methanol dan aquades. Campuran sampel dan pelarut disonikasi pada suhu 27-30°C. Fase organik kemudian dipurifikasi dengan larutan NaCl lalu diuapkan sehingga menghasilkan ekstrak lipid *Stylissa sp.*

Profiling senyawa dengan GC-MS dilakukan berdasarkan metode Patel *et al.*, (2016). Sebanyak 1 µL larutan sampel dengan konsentrasi 5.000 µg/mL diinjeksi ke dalam instrumen GC-MS dengan laju aliran helium 1 mL/menit (kemurnian 99,9%) sebagai gas pembawa dan tekanan pra-kolom 112,9 kPa. Kemudian, spektrometer massa dalam mode kompak elektron dengan energi elektron 70 eV dan jaga suhu sumber ion dan quadropole pada 200°C. Selanjutnya dilakukan pencarian peak, peak integration dan retention time correction dianalisis dengan dengan analisis post-run (GC-MS QP 2010) Shimadzu, Jepang.

Pengujian Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan dengan metode cakram berdasarkan modifikasi dari Cappuccino & Welsh (2018). Suspensi bakteri dibuat di Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi (BLKPK) Provinsi NTB sesuai dengan standar 0,5 *McFarland* yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Pengujian antibakteri dilakukan secara aseptis dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Penuangan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) konsentrasi 34 gr/L ke dalam cawan petri setinggi ± 4mm dekat dengan api bunsen. Setelah media MHA mengeras, suspensi bakteri ditanam ke dalam media sebanyak 200 µL kemudian diratakan menggunakan *spreader* lalu ditunggu selama 5 menit. Setelah 5 menit, sebanyak 20 µL larutan masing-masing kelompok uji diaplikasikan ke kertas cakram kemudian ditempatkan diatas permukaan media MHA menggunakan pinset steril.

Seri konsentrasi sampel yang digunakan yaitu 25%, 75%, dan 100%. Kontrol positif yang digunakan adalah clindamycin (0,001%), sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah n-heksana. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter area

bening di sekitar kertas cakram kemudian zona hambat dihitung menggunakan rumus pada persamaan 1.

$$\text{Zona Hambat} = \frac{(d1-dc) + (d2-dc) + (d3-dc) + (d4-dc)}{4} \quad (1)$$

Keterangan:

d= diameter

c= cakram

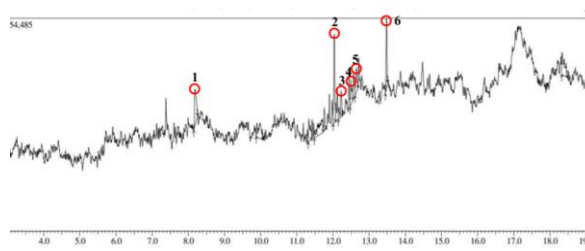
Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Lipid *Stylissa sp.*

Ekstraksi lipid spons laut *Stylissa sp.* menggunakan metode standar ekstraksi lipid dari jaringan biologis yang efektif dalam mengekstrak lipid dari jaringan biota laut (Iverson *et al.*, 2001; Pati *et al.*, 2016). Karakteristik ekstrak lipid yang didapatkan berupa cairan kental berwarna kuning kecoklatan dan memiliki bau yang khas. Hasil rendemen lipid terhadap ekstrak kering yang didapatkan yaitu sebesar 0,68%.

Profiling metabolite ekstrak lipid *Stylissa sp.* dengan GC-MS

Identifikasi profil metabolit ekstrak lipid spons laut *Stylissa sp.* dilakukan dengan instrument GC-MS. Pengukuran kromatografi gas menghasilkan kromatogram seperti pada **Gambar 1**, dan hasil analisis MS teridentifikasi sebanyak 6 senyawa dominan yang disajikan pada **Tabel 1**.



Gambar 1. Kromatogram GC ekstrak lipid spons laut *Stylissa sp.*

Tabel 1. Senyawa hasil identifikasi GC-MS ekstrak lipid spons laut *Stylissa sp.*

Puncak	Senyawa/ rumus molekul	Golongan	Kelimpahan (%) / Rt (menit)
1	Asam Palmitat/ C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Asam lemak jenuh	16,31/ 12,033

2	Butil glikol aasetat/ $C_8H_{16}O_3$	Asam karboksilat	12,85/ 8,181
3	n-eikosilsikl oheksana/ $C_{26}H_{52}$	Alkena	10,56/ 13,478
4	Isopropil asam laurat/ $C_{15}H_{30}O_2$	Ester	7,25/ 12,220
5	Asam oleat/ $C_{19}H_{36}O_2$	Asam lemak tak jenuh	6,68/ 12,490
6	1-Tetradeka nol/ $C_{14}H_{30}O$	Alkohol lemak	6,50/ 12,650

Rt = Retention time

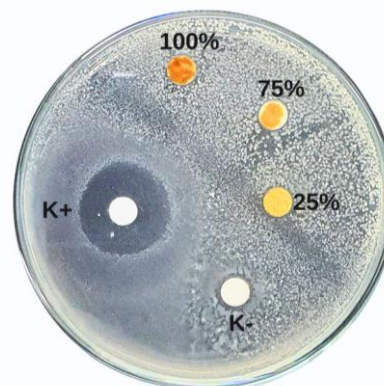
Hasil analisis GC-MS menunjukkan bahwa terdapat 6 peak senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak lipid *Stylissa sp.* Dimana senyawa dengan kelimpahan yang tinggi yaitu asam palmitat dengan persentase kelimpahan relative sebesar 16,31%. Selain itu, ekstrak lipid *Stylissa sp.* juga mengandung asam lemak tak jenuh rantai pendek dengan kelimpahan rendah yaitu asam oleat sebesar 6,68%. Hasil yang didapatkan berbeda dengan penelitian Bennett *et al.*, (2018) yang menghasilkan bahwa spons laut *Stylissa sp.* memiliki kandungan lipid dan asam lemak yang tinggi terutama asam lemak rantai panjang seperti n-3 dan n-6 LC-PUFA.

Perbedaan hasil ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya yaitu peningkatan temperature laut saat pengambilan sampel. Organisme seperti spons laut akan melakukan suatu respons pencegah destabilisasi dan mempertahankan keadaan fungsional membrane sel dengan meningkatkan konsentrasi lipid yang memiliki titik leleh tinggi dan mengubah derajat ketidakterjenuhan asam lemak (Lawson *et al.*, 1988). Hal ini didukung juga pada hasil penelitian Bennet *et al.* (2018) bahwa kadar asam lemak paling rendah dihasilkan dari spons laut *Stylissa sp.* pada kelompok *ocean warming*.

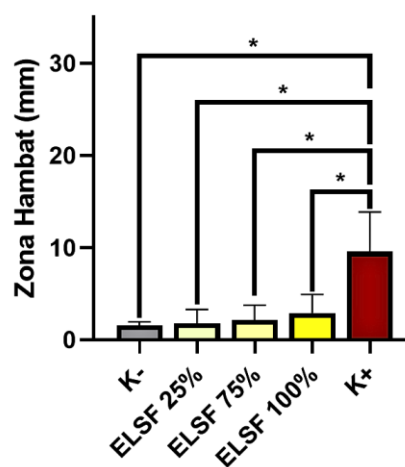
Pengujian antibakteri ekstrak lipid *Stylissa sp.*

Parameter aktivitas antibakteri pada penelitian ini yaitu dengan pengukuran zona hambat pada daerah bening pada sekitar

paperdisk setelah diinkubasi selama 24 jam seperti yang terlihat pada **Gambar 2**. Data hasil pengukuran zona hambat tiap perlakuan disajikan dalam grafik batang pada **Gambar 3**.



Gambar 2. Pengamatan cawan uji antibakteri ekstrak lipid spons laut *Stylissa sp.*



Gambar 3. Grafik zona hambat uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. K-: Kontrol negatif; ELSF: Ekstrak lipid *Stylissa sp.*; K+: Clindamycin 0,001%; *: significant.

Hasil pengamatan terlihat bahwa terdapat peningkatan yang progresif pada zona hambat ekstrak lipid *Stylissa sp.* seiring dengan peningkatan konsentrasi. Zona hambat tertinggi yaitu pada konsentrasi 100% yang menghasilkan zona hambat sebesar 2,92 mm. Namun hasil ini dikategorikan dalam kategori lemah (Davis & Stout, 1971). Berbeda dengan kontrol positif yaitu clindamycin 0,001% yang memiliki daya hambat sedang dengan rata-rata zona hambat yang dihasilkan sebesar 9,58 mm. Berdasarkan analisis statistik terlihat bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol positif

dengan kontrol negatif, serta dengan semua konsentrasi ekstrak lipid *Stylissa sp.*. Hal ini berarti bahwa kemampuan daya hambat bakteri *S. aureus* dari ekstrak lipid *Stylissa sp.* masih belum dapat menyerupai kemampuan daya hambat dari clindamycin 0,001% (**Gambar 3**).

Kelemahan daya hambat yang dihasilkan oleh ekstrak lipid *Stylissa sp.* dapat dihubungkan dengan senyawa yang dikandung didalamnya. Berdasarkan **Tabel 1** terlihat bahwa asam palmitat yang merupakan golongan senyawa asam lemak jenuh memiliki kelimpahan yang paling tinggi dibandingkan dengan golongan asam lemak tak jenuh, dimana menurut penelitian terdahulu bahwa asam lemak jenuh menunjukkan daya hambat yang lemah dibandingkan asam lemak tidak jenuh (Hendy et al., 2020; JS et al., 2013). Sehingga, untuk dapat meningkatkan hasil aktivitas antibakteri *Stylissa sp.* dapat dilakukan isolasi senyawa asam lemak tak jenuh yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang lebih efisien

Kesimpulan

Ekstrak lipid spons laut *Stylissa sp.* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan ekstrak tersebut mengandung senyawa asam palmitat, butil glikol asetat, n-eikosilsikloheksana, isopropil asam laurat, asam oleat, dan 1-tetradekanol.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Mataram yang telah mendanai penelitian ini.

Referensi

- Axelsson, M., & Gentili, F. (2014). A single-step method for rapid extraction of total from green microalgae. *PLoS ONE*, 9(2), 17–20.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089643>
- Bennett, H., Bell, J. J., Davy, S. K., Webster, N. S., & Francis, D. S. (2018). Elucidating the sponge stress response; lipids and fatty acids can facilitate survival under future climate scenarios. *Global Change Biology*, 24(7), 3130–3144.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/gcb.14116>
- Bosch, R., Philips, N., Suárez-Pérez, J. A., Juarranz, A., Devmurari, A., Chalensouk-Khaosart, J., & González. (2015). Mechanisms of photoaging and cutaneous photocarcinogenesis, and photoprotective strategies with phytochemicals. *Antioxidants*, 4(2), 248–268.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/antiox4020248>
- Botić, T., Cör, D., Anesi, A., Guella, G., Sepčić, K., Janussen, D., Kersken, D., & Knez, Ž. (2015). Fatty acid composition and antioxidant activity of Antarctic marine sponges of the genus *Latrunculia*. *Polar Biology*, 38(10), 1605–1612.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00300-015-1722-z>
- Cappuccino, J. G., & Welsh, C. (2018). *Microbiology: A Laboratory Manual* (11th ed.). Pearson Education Limited 2018.
- Davis, W. ., & Stout, T. . (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 659–665.
- Diba, S., Antonius, C. S., Kurniawati, Y., Karowigno, S., & Budiamal, S. (2023). Diagnosa dan Tata Laksana Nevus Hori. *Media Dermato-Venereologica Indonesiana*, 49(4), 212–219.
<https://doi.org/10.33820/mdvi.v49i4.413>
- Gilda, G., Novia, E., Hendsun, H., Wellen, F., Firmansyah, Y., & Tan, S. T. (2024). Moist Sebagai Mediator Pada Korelasi Uv Damage Terhadap Kadar Porfirin Pada Siswa Kalam Kudus II Jakarta. *Journal of Medicine and Health*, 6(2), 31–39.
<https://doi.org/10.28932/jmh.v6i2.8671>
- Hendy, N. O., Indriyanti, R., & Gartika, M. (2020). Daya Antibakteri Asam Palmitat Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 4(2), 109–114.
<https://doi.org/10.24198/pjdrs.v4i1.27595>
- Horrobin, D. . (1989). Essential fatty acids in clinical dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 20(6), 1045–1053.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(89\)70130-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0190-9622(89)70130-4)
- Iverson, S. ., Lang, S. L. ., & Cooper, M. . (2001).

- Comparison of the bligh and dyer and folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue. *Lipids*, 36(11), 1283–1287. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11745-001-08430>
- JS, C., NH, P., SY, H., JH, S., Kwak, & Inseok, C. K. (2013). The antibacterial activity of various saturated and unsaturated fatty acids against several oral pathogens. *J Environmental Biology*, 34, 673–676.
- Latreille, J., Kesse-Guyot, E., Malvy, D., Andreeva, V., Galan, P., Tschachler, E., Hercberg, S., Guinot, C., & Ezzedine, K. (12 C.E.). Dietary Monounsaturated Fatty Acids Intake and Risk of Skin Photoaging. *PLoS ONE*, 7(9), 3–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044490>
- Lawson, M. ., Stoilov, I. ., Thompson, J. ., & Djerassi, C. (1988). Cell membrane localization of sterols with conventional and unusual side chains in two marine demonsponges. *Lipids*, 23(8), 750–754. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF02536216>
- Lestari, I., Prajuwita, M., & Lastri, A. (2021). Penentuan Nilai SPF Kombinasi Ekstrak Daun Ketepeng Dan Binahong Secara In Vitro. *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.30591/pjif.v10i1.2030>
- Maromon, Y., Pakan, P., & Maria, E. D. (2020). Uji aktivitas anti bakteri minyak kelapa murni (virgin coconut oil) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Cendana Medical Journal*, 8(2), 250–255. <https://ejournal.undana.ac.id/CMJ/article/view/3494>
- Marzuki, I. (2018). Eksplorasi Spons Indonesia. In *Nas Media Pustaka*.
- Niemi, C., Lage, S., & Gentili, F. . (2019). Comparisons of analysis of fatty acid methyl ester (FAME) of microalgae by chromatographic techniques. *2Algal Research*, 39. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101449>
- Oktarina, E., Kimia, B. B., Kemasari, D., Perindustrian, K., Balai Kimia, J., & Timur, J. (2017). Alga : Potensinya pada Kosmetik dan Biomekanismenya (Algae: Potency on Cosmetic and Its Biomechanism). *Majalah Teknologi Agro Industri (Tegi)*, 9(2).
- Patel, M. K., Mishra, A., & Jha, B. (2016). Non-targeted metabolite profiling and scavenging activity unveil the nutraceutical potential of psyllium (*Plantago ovata* forsk). *Frontiers in Plant Science*, 7, 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00431>
- Pati, S., Nie, B., Arnold, R., & Cummings, B. . (2016). Extraction, chromatographic and mass spectrometric methods for lipid analysis. *Biomedical Chromatography*, 30(5), 695–709. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/bmc.3683>
- Putranti, I. O., & Sistina, Y. (2021). Tinjauan Pustaka: Fotobiologi Ultraviolet Pada Jaringan Kulit. *Mandala Of Health*, 13(2), 33–55. <https://doi.org/10.20884/1.mandala.2023.16.1.8379>
- Sulastri, E., Sari, A., & Mappiratu, M. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Krim Asam Laurat Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Dan *Pseudomonas aeruginosa*. 2(2), 59–67.
- Sunarwidhi, A. L., Rosyantari, A., Prasedya, E. S., Ardiana, N., Ilhami, B. T. K., Abidin, A. S., Ambana, Y., Kirana, I. A. P., Wirasisya, D. G., Anugrah, W., Fersiyana, R. D., & Dewi, N. M. A. R. (2021). The correlation between total protein content and antioxidant activity of collagen isolated from a marine sponge *Stylissa flabelliformis* collected from North Lombok Indonesia coast. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 913(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.1088/1755-1315/913/1/012103>
- Tanaka, M., Yamamoto, Y., Misawa, E., Nabeshima, K., Saito, M., Yamauchi, K., Abe, F., & 2017Furukawa, F. (2017). Effects of Aloe Sterol Supplementation on Skin Elasticity, Hydration, and Collagen Score: A 12-Week Double-Blind, Randomized, Controlled Trial. *Skin Pharmacology and Physiology*, 29(6),

309–317.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1159/000454718>

Vonthron-Sénécheau, C. (2016). Seaweed in

Health and Disease Prevention. *Medicinal Properties: Antibiotic, Tonic, and Antiparasitic Properties.*, 11, 369–388.