

EKSTRAKSI DAN IDENTIFIKASI FITOSTEROL PADA MIKROALGA *Nannochloropsis oculata*

Bumiarto Nugroho Jati, Retno Yunilawati, Chicha Nuraeni, Eva Oktarina,
Silvie Ardhanie Aviandharie, dan Dwinna Rahmi

Badan Penelitian dan Pengembangan Industri, Kementerian Perindustrian
Jl. Jenderal Gatot Subroto Kav. 52-53, Lt. 19, Jakarta Selatan

E-mail: retnoyunilawati@gmail.com

Received : 11 Maret 2019 ; revised : 27 Maret 2019 ; accepted : 23 April 2019

ABSTRAK

EKSTRAKSI DAN IDENTIFIKASI FITOSTEROL PADA MIKROALGA *Nannochloropsis oculata*. Fitosterol merupakan golongan senyawa kelompok steroid yang dapat ditemukan dalam tanaman dan organisme laut seperti mikroalga. Fitosterol digunakan sebagai suplemen makanan yang berfungsi untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah. *Nannochloropsis oculata* merupakan salah satu sumber terbesar dari fitosterol yang memiliki prospek menjanjikan untuk dijadikan sebagai suplemen makanan. Pada penelitian ini telah dilakukan ekstraksi dan identifikasi jenis fitosterol dari *Nannochloropsis oculata* yang berasal dari perairan Lampung. Skrining fitokimia menyatakan bahwa *Nannochloropsis oculata* selain mengandung golongan senyawa sterol juga mengandung golongan senyawa flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Hasil identifikasi menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS)* menunjukkan bahwa *Nannochloropsis oculata* mengandung fitosterol dengan kelimpahan 91,96% yang terdiri dari campesterol, stigmasterol, dan sitosterol dengan kelimpahan masing-masing sebesar 23,02% ; 29,04% dan 39,80%.

Kata kunci : Ekstraksi, *Nannochloropsis oculata*, Fitosterol

ABSTRACT

EXTRACTION AND IDENTIFICATION OF PHYTOSTEROL IN MICROALGAE *Nannochloropsis oculata*. *Phytosterol is a class of compounds in the steroid group that only found in plants and marine organisms such as microalgae. Phytosterol has been widely used as a food supplement for reducing cholesterol levels in the blood. Nannochloropsis oculata is one of the largest sources of fitosterol which has promising prospects to be used as a food supplement. In this study extraction and identification of the type of phytosterol from Nannochloropsis oculata from Lampung waters were carried out. Phytochemical screening indicated that Nannochloropsis oculata besides contained sterol compounds also contained a class of flavonoids which could function as antioxidants. The results of identification using Gas Chromatography Mass Spectrometer (GC-MS) showed that Nannochloropsis oculata contained 91.96 % phytosterol consisting of campesterol, stigmasterol, and sitosterol in amount of 23.02% respectively; 29.04% and 39.80%.*

Key words : Extraction, *Nannochloropsis oculata*, Phytosterol

PENDAHULUAN

Perairan laut, khususnya di Indonesia menyimpan keanekaragaman hayati dengan begitu banyak organisme hidup, diantaranya adalah mikroalga yang memiliki banyak komponen senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan. Fitosterol adalah salah satu jenis golongan senyawa yang bermanfaat tersebut, ditemukan pada hampir semua tanaman, dan ditemukan dalam jumlah banyak pada mikroalga (Lopes *et al.* 2013).

Fitosterol merupakan golongan senyawa dalam kelompok steroid. Fitosterol secara struktur terdiri dari triterpena yang mirip dengan

kolesterol pada hewan (Cuomo *et al.* 2012), perbedaannya terletak pada sisi samping dari kerangkanya. Karena strukturnya yang mirip, maka ketika dikonsumsi oleh tubuh keduanya berkompetisi dalam penyerapan oleh sistem pencernaan sehingga adanya fitosterol dapat menurunkan kadar kolesterol dalam tubuh manusia. Beberapa jenis senyawa golongan fitosterol antara lain campesterol, stigmasterol, sitosterol, ergosterol, dan fucosterol.

Sejak pertengahan 1990-an, produk fitosterol telah dikomersialkan sebagai nutraceuticals atau obat-obatan (Luo, Su, dan

Zhang 2015) dengan kemampuan menurunkan kadar kolesterol darah. Sampai saat ini, tanaman tingkat tinggi telah menjadi sumber industri utama fitosterol yang secara alami hadir dalam minyak nabati, kacang-kacangan, biji-bijian, dan buah-buahan kering. Selain itu, fitosterol juga banyak terdapat pada ganggang dan alga. Penelitian Australia menyatakan bahwa *Pavlova lutheri*, *Tetrasellimis sp. M8*, dan *Nannochloropsis sp. BR2* diidentifikasi sebagai tiga teratas sumber fitosterol tertinggi (0,4% sampai dengan 2,6% berat kering) setelah skrining ratusan isolat (Ahmed, Zhou, dan Schenk 2015). Produk fitosterol yang berada di pasaran pada umumnya tidak terdiri dari satu senyawa tunggal jenis fitosterol namun terdiri dari gabungan beberapa jenis senyawa fitosterol. *Nannochloropsis occulata* merupakan salah satu jenis mikroalga hijau dengan ukuran sel 1-4 μm . *Nannochloropsis occulata* di Indonesia terdapat di perairan Ambon, Jepara, dan Lampung, namun untuk budidaya secara besar baru ada di Jepara (Besar Perikanan Budidaya Air Payau) dan Lampung (Balai Besar Perikanan Budidaya Laut). Pengembangan mikroalga *Nannochloropsis occulata* menjadi sumber fitosterol memiliki prospek yang menjanjikan mengingat *Nannochloropsis sp.* merupakan salah satu mikroalga terbesar sebagai sumber fitosterol (Ahmed, Zhou, dan Schenk 2015). Pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi fitosterol dan identifikasi senyawa fitosterol pada *Nannochloropsis occulata* sehingga nantinya dapat dikembangkan sebagai suplemen makanan yang dapat berfungsi sebagai penurun kolesterol dalam darah.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nannochloropsis occulata* dalam bentuk serbuk yang diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Lampung (BBPBL). Bahan kimia yang digunakan terdiri atas petroleum eter (Merck), etanol (Merck), natrium hidroksida (NaOH), kloroform, dan etanol.

Peralatan yang digunakan antara lain seperangkat alat *soxhlet*, *rotary evaporator*, kromatografi lapis tipis (KLT) dan *GC-MS* Agilent 6890.

Metode

Analisis Bahan Baku

Analisis bahan baku yang dilakukan meliputi skrining fitokimia dan analisis proksimat. Skrining fitokimia dilakukan terhadap *Nannochloropsis occulata* yang belum diekstrak, yang terdiri atas identifikasi senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid dan kuinon (Agustini 2018).

Tanin: 700 μl ekstrak larutan mikroalga dicampur dengan 50 mL akuades dan ditambahkan 1 % besi klorida tetes demi tetes. Pembentukan larutan hijau tua menunjukkan adanya tanin.

Flavonoid: 500 μl ekstrak larutan mikroalga dilarutkan dalam 1 mL NaOH 10 % dan tambahkan beberapa tetes HCl pekat. Kehadiran flavonoid ditunjukkan oleh hilangnya warna kuning

Alkaloid: 500 μl ekstrak larutan mikroalga ditambahkan dengan beberapa tetes Reagen Wagner (larutan yodium dalam kalium iodida). Terbentuknya endapan coklat kemerahan menunjukkan adanya alkaloid.

Saponin: 1 mL ekstrak larutan mikroalga ditambahkan beberapa tetes 1 % klorida besi munculnya gelembung kecil menunjukkan adanya saponin.

Steroid: 100 μl ekstrak larutan mikroalga ditambahkan dengan 400 μl anhidrida asetat dan beberapa tetes asam sulfat pekat. Pembentukan warna coklat cincin menunjukkan adanya steroid.

Terpenoid: 500 μl ekstrak larutan mikroalga ditambahkan dengan 400 μl kloroform kemudian dihomogenkan. Kemudian tambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat. Adanya warna coklat kemerahan yang terbentuk pada permukaan mengindikasikan adanya terpenoid.

Kuinon: 10 mL ekstrak larutan mikroalga tambahkan 3 tetes NaOH 10 %. Pembentukan warna merah menunjukkan adanya kuinon.

Ekstraksi dan saponifikasi (Kamboj dan Saluja 2011)

Sebanyak 100 gram serbuk *Nannochloropsis occulata* diekstraksi menggunakan pelarut petroleum eter dalam seperangkat alat *Soxhlet*. Waktu ekstraksi divariasikan selama 5 jam, 10 jam, 15 jam, 20 jam, 25 jam, dan 30 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak berupa padatan yang berwarna kekuningan. Ekstrak ini kemudian ditambahkan 1 M KOH etanolik dan dipanaskan selama 1 jam menggunakan refluks. Setelah selesai, dipindahkan ke dalam corong pisah, ditambahkan petroleum eter untuk mengambil lemak tidak tersabunkan. Ekstrak lemak tidak tersabunkan kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator*. Sampai pada tahap ini diperoleh lemak tidak tersabunkan (*crude sterol*).

Identifikasi senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT)

Sejumlah lemak tidak tersabunkan dilarutkan dalam kloroform, dan sedikit dari larutan ini ditotolkan dalam plat kromatografi lapis tipis (KLT) yang berisi silica gel 60 F₂₅₄. Plat KLT ini kemudian dijalankan dalam eluen (pelarut) yang terdiri dari campuran kloroform dan etanol pada berbagai perbandingan. Spot yang ada pada plat KLT setelah dijalankan dalam eluen dapat dilihat dengan bantuan sinar ultraviolet (UV).

Identifikasi senyawa menggunakan GC-MS

Identifikasi jenis senyawa fitosterol dilakukan menggunakan GC-MS dengan jenis kolom HP5-MS (panjang 30 m, diameter 0,25 mm dan ketebalan film 1 µm, dengan bahan pengisi (5%-Phenyl)-methylpolysiloxane) dan fasa gerak gas helium. Spektrum massa diperoleh melalui mode *Electron Ionization (EI)* dengan *scanning* massa 55 a.m.u - 500 a.m.u pada 70 eV.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining fitokimia dan analisis proksimat

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif yang mempunyai fungsi tertentu. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya reaksi positif pada golongan senyawa steroid dan flavonoid (Tabel 1). Steroid merupakan kelompok besar dari sterol. Hasil uji positif terhadap steroid menunjukkan bahwa mikroalga yang digunakan mengandung sterol. Sedangkan flavonoid adalah kelompok senyawa fenolik yang dalam tanaman biasanya berfungsi sebagai antioksidan. Jadi selain mengandung senyawa golongan steroid yang memiliki banyak fungsi bagi kesehatan, mikroalga *Nannochloropsis occulata* juga mengandung senyawa fenolik yang dapat bersifat sebagai antioksidan (Fithriani *et al.* 2017).

Pada penelitian ini menggunakan bahan baku mikroalga *Nannochloropsis occulata* dengan hasil analisa proksimat yang terangkum

pada Tabel 2. Mikroalga *Nannochloropsis occulata* memiliki kadar abu yang sangat tinggi (46,19) yang mengindikasikan adanya kandungan bahan anorganik yang sangat tinggi. Hal ini disebabkan dalam proses pemanenan menggunakan koagulan NaOH karena ukuran *Nannochloropsis occulata* yang sangat kecil. Penggunaan koagulan ini juga berpengaruh terhadap kadar lemak total, yaitu hanya 6,23%. Sedangkan kadar lemak untuk *Nannochloropsis occulata* murni sebesar 75,37%. Pada penelitian ini menggunakan bahan baku *Nannochloropsis occulata* serbuk yang telah dicampur dengan koagulan NaOH untuk memudahkan dalam proses ekstraksi dikarenakan *Nannochloropsis occulata* murni yang memiliki kadar lemak sebesar 75,37% tidak dapat digunakan sebagai bahan baku dikarenakan ukuran yang sangat kecil.

Ekstraksi Fitosterol

Sterol merupakan senyawa non polar yang masuk dalam golongan lemak sehingga dalam ekstraksi sterol yang pertama dilakukan adalah ekstraksi lemak. Ekstraksi yang umum digunakan untuk ekstraksi lemak dalam alga adalah ekstraksi pelarut menggunakan pelarut non polar seperti heksana, kloroform, isopropanol dan petroleum eter (Chen *et al.* 2012) serta diklorometana (Chaturvedula, Prakash, dan Prakash 2012). Beberapa metode ekstraksi lain yang dapat digunakan juga adalah ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro (*microwave assisted*), ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik (*ultrasonic assisted*), dan super kritikal.

Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada kecepatan, investasi peralatan, pelarut dan daur ulang dari pelarutnya serta kemudahan untuk pembesaran skala. Ekstraksi pelarut dengan metode *Soxhlet* dipilih dalam penelitian ini (Grosso *et al.* 2015) meskipun waktu yang diperlukan cukup lama, namun memerlukan investasi peralatan yang tidak mahal, pelarut dapat didaur ulang dan mudah untuk didaur ulang.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia

Species	Golongan senyawa						
	Alkaloid	Flavonoid	Tannin	Saponin	Steroid	Triterpenoid	Quinon
<i>Nannochloropsis occulata</i> .	—	+	—	—	+	—	—

Tabel 2. Hasil analisis proksimat

Jenis mikroalga	Parameter				
	Kadar air (%)	Kadar abu (%)	Lemak Total (%)	Protein (%)	Karbohidrat (%)
<i>Nannochloropsis serbuk</i> (Lampung)	18,96	46,19	6,23	8,83	19,79

Hampir semua metode ekstraksi lemak alga mempersyaratkan agar alga yg diekstraksi dalam keadaan kering dengan kadar air tidak lebih dari 10% (Chen *et al.* 2012). Oleh karena itu, dalam penelitian ini dipilih sampel *Nannochloropsis sp* dalam bentuk serbuk meskipun kadar lemak total menjadi lebih rendah dibanding *Nannochloropsis occulata* murni dalam bentuk padatan basah hasil sentrifus.

Hasil optimasi waktu ekstraksi lemak *Nannochloropsis sp* dapat dilihat pada Gambar 1. Persentase lemak yang terekstrak semakin banyak dengan semakin lamanya waktu ekstraksi, dan meningkat tajam pada waktu ekstraksi selama 25 jam dengan lemak terekstrak sebesar 89%. Pada waktu lebih dari 25 jam, persentase ekstraksi tetap. Hal ini menunjukkan bahwa waktu terpendek untuk mencapai persentase lemak terekstrak tertinggi adalah 25 jam. Optimasi lemak terekstrak diperlukan dalam penelitian ini untuk memastikan bahwa semua jenis senyawa fitosterol sudah terekstrak.

Tahap selanjutnya dalam ekstraksi fitosterol setelah ekstraksi lemak adalah melakukan reaksi hidrolisis/penyabunan terhadap lemak yang diperoleh. Reaksi ini menghasilkan lemak tersabunkan dan lemak tidak tersabunkan, serta untuk memungkinkan pembelahan ikatan ester dalam konjugat fitosterol. Fitosterol terdapat dalam bagian lemak yang tidak tersabunkan.

Identifikasi menggunakan KLT

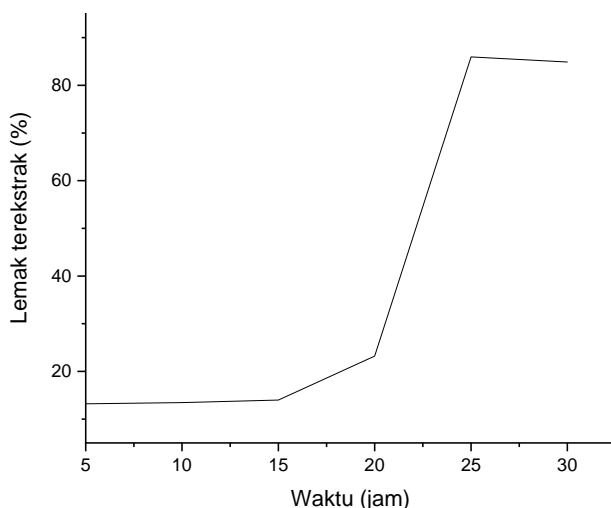
KLT menjadi metode penting dalam analisis kualitatif senyawa golongan steroid karena banyak sampel dapat dianalisis secara bersamaan dan cepat, memerlukan sampel yang sedikit dan caranya mudah (Bhawani *et al.* 2010). Dari analisis menggunakan KLT ini akan didapatkan informasi jumlah senyawa yang

terdapat di dalam lemak tidak tersabunkan (*crude* fitosterol) serta dapat menentukan jenis senyawanya apabila literatur dari penelitian sebelumnya tersedia. Pemisahan *crude* fitosterol berlangsung optimal pada perbandingan eluen kloroform : etanol = 9,8 : 0,2 yang menghasilkan 3 spot dengan *Rf* 0,43 ; 0,64 dan 0,85. Data dari KLT ini memberikan informasi bahwa di dalam lemak tidak tersabunkan (*crude* fitosterol) terdapat 3 macam senyawa.

Identifikasi jenis senyawa fitosterol menggunakan GC-MS

Identifikasi jenis senyawa yang terdapat pada *crude* fitosterol dilakukan menggunakan GC-MS. Teknik analisis menggunakan kromatografi merupakan metode yang paling banyak digunakan pada identifikasi senyawa sterol, terutama kromatografi gas (Santos *et al.* 2014), baik menggunakan detector *FID* (*Flame Ionization Detector*) maupun *MS* (*Mass Spectrometer*/spektrometer massa). Kromatografi gas adalah metode pemisahan fisik yang memungkinkan efisiensi tinggi pada analisis jenis senyawa berbeda berdasarkan volatilisasi dan interaksi dengan fase stasioner dari kolom kapiler bersama gas pembawa yang inert (helium) (Bezerra dan Filho 2014). Penggunaan detector *MS* memiliki kelebihan, yaitu bisa digunakan untuk identifikasi tanpa menggunakan senyawa standar, namun menggunakan data fragmentasi massa.

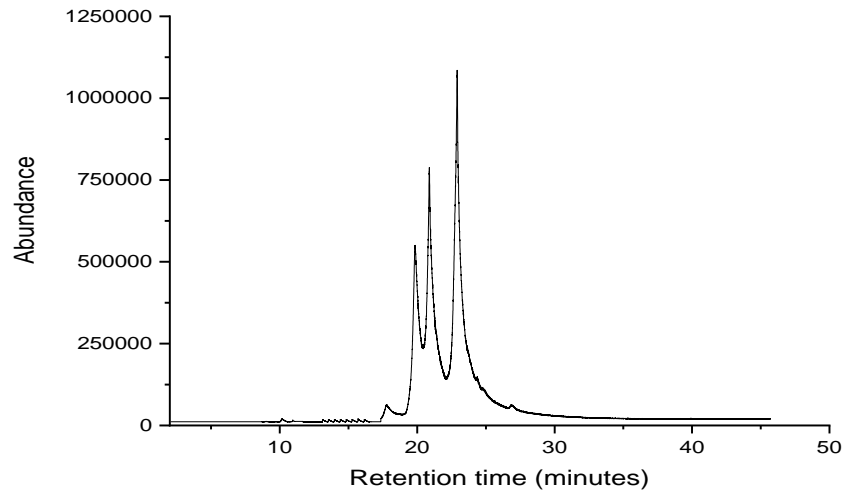
Hasil identifikasi menggunakan GC-MS ditunjukkan oleh kromatogram pada Gambar 2, yaitu terdapat 3 puncak dengan waktu retensi 19,838 menit; 20,885 menit; dan 22,911 menit. Adanya 3 puncak ini menunjukkan ada 3 jenis senyawa jenis fitosterol dalam *crude* fitosterol *Nannochloropsis occulata*, sama seperti hasil identifikasi menggunakan KLT yang menunjukkan adanya 3 spot.



Gambar 1. Persentase lemak terekstrak pada berbagai waktu ekstraksi mikroalga *Nannochloropsis sp*.

Scanning menggunakan detektor spektrometer massa memperlihatkan bahwa berat molekul dari ketiga senyawa tersebut masing-masing adalah 400, 412, dan 414 (Tabel 3). Identitas dari ketiga senyawa tersebut dapat diperoleh dengan cara membandingkannya dengan library yang terdapat dalam GC-MS yang dalam ini menggunakan library Wiley 7.0 dan diperoleh

data senyawa seperti pada Tabel 4. Berdasarkan data pada Tabel 4, diketahui bahwa jenis senyawa fitosterol yang ada pada *Nannochloropsis occulata* adalah campesterol, stigmasterol, dan -sitosterol. Perbedaan dari ketiga senyawa ini terletak pada sisi samping kerangka sterolnya. Campesterol berbeda dengan -sitosterol dalam hal jumlah

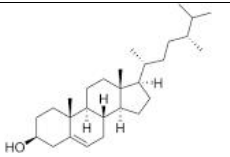
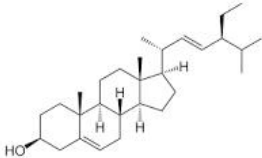
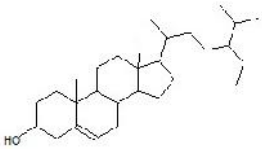


Gambar 2. Kromatogram hasil analisis menggunakan GC-MS dari fitosterol yang terdapat pada *Nannochloropsis occulata*

Tabel 3. Berat molekul (m/z) dari senyawa fitosterol hasil scanning spektrometer massa

Waktu retensi (menit)	m/z
19,838	400
20,885	412
22,911	414

Tabel 4. Hasil identifikasi senyawa fitosterol pada *Nannochloropsis occulata* menggunakan GC-MS

No.	Waktu retensi (menit)	Jenis senyawa	Struktur	Kelimpahan (%)
1	19,838	Campesterol (C ₂₈ H ₄₈ O)		23,02
2	20,885	Stigmasterol (C ₂₉ H ₄₈ O)		29,14
3	22,911	-Sitosterol (C ₂₉ H ₅₀)		39,80
Jumlah				91,96

atom karbon sisi samping (berkurang 1 atom C pada campesterol), sedangkan stigmasterol berbeda dalam hal adanya ikaran rangkap dua pada sisi samping sterol. -sitosterol merupakan jenis fitosterol yang terbanyak dengan kelimpahan sebesar 39,80% kemudian diikuti oleh stigmasterol dan campesterol. Kelimpahan total dari senyawa fitosterol sebanyak 91,96% dan ada sekitar 8% yang bukan merupakan fitosterol. Dalam lemak tidak tersabunkan (*crude* fitosterol), selain jenis fitosterol terdapat juga senyawa terpena lain dan hidrokarbon (Shoubaky dan Salem 2014) sehingga diperkirakan kelimpahan 8% ini adalah senyawa jenis terpena lain dan hidrokarbon.

Sejauh ini belum ada penelitian mengenai jenis fitosterol dari *Nannochloropsis oculata* yang berasal dari perairan laut di Indonesia maupun dari perairan lain sehingga komposisi ini tidak dapat dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Namun berdasarkan penelitian lain, disebutkan bahwa komposisi jenis fitosterol dalam mikroalga bervariasi tergantung pada perubahan musim dan pengaruh kondisi lingkungannya seperti cahaya, suhu, dan ketersediaan nutrisi (Kumari *et al.* 2013).

KESIMPULAN

Identifikasi fitosterol pada *Nannochloropsis oculata* yang berasal dari perairan Lampung menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrometer menunjukkan bahwa jenis fitosterol yang didapatkan terdiri dari campesterol, stigmasterol, dan -sitosterol dengan kelimpahan masing-masing sebesar 23,02% ; 29,04% dan 39,80%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N.W.S dan S. Miranda. 2018. "Screening Fitokimia, Uji Aktivitas Antimikroba Dan Antioksidan, Serta Identifikasi Senyawa Dari Ekstrak Biomassa Chlorella Vulgaris." *Journal of Ago-Based Industry* 35 (1): 29–37.
- Ahmed, F., W. Zhou, dan P.M. Schenk. 2015. "Pavlova Lutheri Is a High-Level Producer of Phytosterols." *Algal Research* 10: 210–17.
- Bezerra, K.S.D., dan N.R.A. Filho. 2014. "Characterization and Quantification by Gas Chromatography of Free Steroids in Unsaponifiable Matter of Vegetable Oils." *Journal of the Brazilian Chemical Society* 25 (2): 238–45.
- Bhawani, S. A., O. Sulaiman, R. Hashim, and M. N. M. Ibrahim. 2010. "Thin-Layer Chromatographic Analysis of Steroids: A Review." *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 9 (3): 301–13. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v9i3.56293>.

- Chaturvedula, V. S. Prakash, dan I. Prakash. 2012. "Isolation of Stigmasterol and ?-Sitosterol from the Dichloromethane Extract of Rubus Suavissimus." *International Current Pharmaceutical Journal* 1 (9): 239–42.
- Chen, M., T. Liu, X. Chen, L. Chen, W. Zhang, J. Wang, L. Gao, Y. Chen, dan X. Peng. 2012. "Subcritical Co-Solvents Extraction of Lipid from Wet Microalgae Pastes of Nannochloropsis Sp." *European Journal of Lipid Science and Technology* 114 (2): 205–12. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201100120>.
- Cuomo, V., L. Trabace, S. Schiavone, M. Zotti, M. Colaianna, P. Tucci, P. Trotta, M. G. Morgese, dan M. Francavilla. 2012. "Extraction, Characterization and In Vivo Neuromodulatory Activity of Phytosterols from Microalga Dunaliella Tertiolecta." *Current Medicinal Chemistry* 19 (18): 3058–67.
- Fithriani, D., S. Amini, S. Melanie, dan R. Susilowati. 2017. "Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga Spirulina Sp., Chlorella Sp., Dan Nannochloropsis Sp." *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan* 10 (2): 101.
- Grosso, C., P. Valentão, F. Ferreres, dan P. B. Andrade. 2015. "Alternative and Efficient Extraction Methods for Marine-Derived Compounds." *Marine Drugs* 13 (5): 3182–3230. <https://doi.org/10.3390/md13053182>.
- Kamboj, A., dan A. K. Saluja. 2011. "Isolation of Stigmasterol and -Sitosterol from Petroleum Ether Extract of Aerial Parts of Ageratum Conyzoides (Asteraceae)." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3 (1): 94–96.
- Kumari, P., M. Kumar, C.R.K. Reddy, dan B. Jha. 2013. *Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals. Alga Lipids, Fatty Acids and Sterol*. <https://doi.org/10.1533/9780857098689>.
- Lopes, G., C. Sousa, P. Valentão, dan P. B. Andrade. 2013. "Sterols in Algae and Health." *Bioactive Compounds from Marine Foods: Plant and Animal Sources*, no. October 2017: 173–91.
- Santos, M. A. Z. d., Miguel, C. M. P. d. P. Roehrs, R. A. Freitag, A. V. De, dan Bairos. 2014. "Analysis of Phytosterols in Plants and Derived Products by Gas Chromatography – A Short Critical Review." *Austin Publishing Group* 1 (5): 1–4.
- Shoubaky, G. A. E., dan E. A. Salem. 2014. "Terpenes and Sterols Composition of Marine Brown Algae Padina." *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 6 (4): 894–900.