

Extraction of keratinase enzyme from marine *Actinomyces* and its antibacterial against *S.aureus* Ekstraksi enzim keratinase dari *Actinomyces* laut dan potensi antibakterinya terhadap *S.aureus*

¹Irene Edith Rieuwpassa, ²Amraida Khusnul Khatimah, ²Muh. Chaerul Gunawan, ²Lalu Novan Maulana, ²Fadhlan Isnain Makkawaru, ²Salsabyila Wahyuni Sa, ²Zalzabila M. Amin.

¹Departemen Ilmu Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin

²Mahasiswa Tingkat Profesi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin

Makassar, Indonesia

Corresponding author: Irene Edith Rieuwpassa, e-mail: ireneedith@unhas.ac.id

ABSTRACT

Staphylococcus aureus is an important pathogen often associated with serious infections and antibiotic resistance. In the search for alternative treatments, marine *Actinomyces* are a potential source due to their ability to produce bioactive enzymes, one of which is keratinase. In addition to its function in keratin degradation, this enzyme is also known to have potential as an antibacterial agent. This article explores the extraction of keratinase enzymes from marine *Actinomyces* isolates and tests their antibacterial activity against *S.aureus*, as a first step in the utilisation of marine biotechnology for medical and pharmaceutical purposes. This systematic review was compiled based on the *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) guidelines. Initial search results of 135 articles were then excluded, yielding four articles that showed that marine *Actinomyces* have antibacterial potential against *S.aureus*. It was concluded that the extraction of keratinase enzymes from marine *Actinomyces* showed significant antibacterial activity against *S.aureus*, indicating the potential of keratinase as an alternative agent for treating gram-positive bacterial infections, especially amid increasing resistance to antibiotics.

Keywords: *Actinomyces*, keratinase enzyme, antibacterial, *Staphylococcus aureus*

ABSTRAK

Staphylococcus aureus merupakan patogen penting yang sering dikaitkan dengan infeksi serius dan resistensi antibiotik. Dalam upaya mencari alternatif pengobatan, *Actinomyces* laut menjadi sumber potensial karena kemampuannya menghasilkan enzim bioaktif, salah satunya keratinase. Selain fungsinya dalam degradasi keratin, enzim ini juga diketahui memiliki potensi sebagai agen antibakteri. Artikel ini mengeksplorasi ekstraksi enzim keratinase dari isolat *Actinomyces* laut serta menguji potensi aktivitas antibakterinya terhadap *S.aureus*, sebagai langkah awal dalam pemanfaatan bioteknologi laut untuk keperluan medis dan farmasi. *Systematic review* ini disusun berdasarkan pedoman *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). Hasil pencarian awal sebanyak 135 artikel kemudian dieksklusikan dan diperoleh 4 artikel yang menunjukkan bahwa *Actinomyces* laut berpotensi antibakteri terhadap *S.aureus*. Disimpulkan bahwa ekstraksi enzim keratinase dari *Actinomyces* laut menunjukkan aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap *S.aureus* yang berarti potensi keratinase sebagai agen alternatif untuk mengatasi infeksi bakteri gram positif, terutama di tengah meningkatnya resistensi terhadap antibiotik.

Kata kunci: *Actinomyces*, enzim keratinase, antibakteri, *Staphylococcus aureus*

Received: 10 August 2025

Accepted: 25 October 2025

Published: 01 December 2025

PENDAHULUAN

Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* masih menjadi tantangan serius dalam bidang kesehatan, terutama dengan munculnya strain resisten terhadap berbagai antibiotik, seperti *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Peningkatan resistensi ini mendorong pencarian agen antimikroba baru yang lebih efektif dan ramah lingkungan. Salah satu sumber potensial yang tengah mendapat perhatian adalah organisme mikro laut, terutama kelompok *Actinomyces*.¹⁻³

Actinomyces merupakan salah satu organisme mikro paling melimpah di tanah dan tersebar luas di ekosistem alami di seluruh dunia termasuk di laut. *Actinomyces* juga termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif yang dikenal sebagai produsen berbagai senyawa bioaktif dalam jumlah yang sangat besar. Senyawa aktif yang dihasilkan *Actinomyces*, yakni enzim, umumnya digunakan sebagai antimikroba, antikanker, antitumor dan penghasil antibiotik. Sekitar 70% antibiotik yang telah ditemukan dihasilkan oleh *Actinomyces*.^{4,5}

Salah satu enzim yang dihasilkan oleh *Actinomyces* adalah keratinase, yaitu enzim proteolitik yang mampu mendegradasi keratin protein keras yang terdapat pada rambut, kuku, dan bulu. Selain aplikasinya dalam industri pengolahan limbah organik, keratinase memiliki potensi antibakteri, yang menjadikannya menarik untuk diteliti lebih lanjut sebagai agen terapeutik alternatif.⁶

Lingkungan laut yang ekstrem mendorong *Actinomyces* untuk menghasilkan metabolit sekunder unik, termasuk enzim dengan karakteristik khas seperti stabilitas tinggi terhadap suhu dan pH. Ekstraksi dan karakterisasi enzim keratinase dari *Actinomyces* laut dapat membuka peluang besar dalam pengembangan senyawa antimikroba baru, khususnya dalam melawan patogen yang resisten seperti *S.aureus* sehingga perlu dibahas pada kajian ini.⁶

METODE

Kajian sistematis ini bertujuan untuk mengeksplorasi ekstraksi enzim keratinase dari isolat *Actinomyces* laut serta menguji potensi aktivitas antibakterinya terhadap *S.aureus*, sebagai langkah awal dalam pemanfaatan bioteknologi laut untuk keperluan medis dan farmasi. Kajian ini mengikuti pedoman *preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses* (PRISMA), bertujuan untuk mengidentifikasi, mengevaluasi, dan menganalisis secara sistematis artikel ilmiah yang membahas ekstraksi enzim keratinase dari *actinomyces* laut serta potensi aktivitas antibakterinya terhadap *S.aureus*. Desain penelitian ini dilakukan melalui identifikasi, seleksi, dan sintesis terhadap artikel ilmiah yang relevan. Studi dilakukan untuk menjawab pertanyaan penelitian yang telah dirumuskan berdasarkan pendekatan *population, intervention, comparison, outcome* (PICO). Pencarian artikel

dilakukan melalui tiga basis data elektronik internasional, yaitu *PubMed*, *ScienceDirect*, dan *Google Scholar*. Artikel merupakan publikasi ilmiah yang diterbitkan dalam 10 tahun terakhir (2015-2025). Pencarian dilakukan menggunakan kombinasi kata kunci (“keratinase enzyme”) AND (“marine actinomycetes” OR “actinomycetes from marine sources”) AND (“Staphylococcus aureus”) AND (“antibacterial”). Selain itu, dilakukan juga pencarian manual dari daftar pustaka artikel yang telah terpilih untuk memastikan kelengkapan referensi yang relevan.

Ditetapkan sejumlah kriteria inklusi dan eksklusi yang ketat untuk memastikan relevansi dan kualitas studi yang dianalisis. Artikel harus diterbitkan dalam bahasa Inggris atau Indonesia, memuat hasil studi yang secara eksplisit melibatkan isolasi atau ekstraksi enzim keratinase dari *actinomycetes* laut, serta mengevaluasi aktivitas antibakteri enzim tersebut terhadap *S.aureus*. Selain itu, hanya studi *in vitro* maupun *in vivo* yang disajikan dalam bentuk *fulltext* dan dapat diakses secara gratis. Sebaliknya, studi yang tidak menggunakan *actinomycetes* laut sebagai sumber keratinase, tidak menguji aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*, berbentuk opini atau editorial, maupun yang hanya menitikberatkan pada degradasi keratin tanpa pengujian antibakteri, dikeluarkan dari proses seleksi. Proses seleksi artikel dilakukan melalui tiga tahapan, yaitu penyaringan awal berdasarkan judul dan abstrak, evaluasi menyeluruh terhadap teks lengkap artikel yang potensial, serta seleksi akhir berdasarkan kesesuaian penuh dengan pertanyaan PICO dan kriteria yang ditentukan. Setiap tahap seleksi dilaksanakan oleh dua penelaah secara independen, dan bila terjadi perbedaan pendapat, keputusan akhir diambil melalui diskusi hingga tercapai konsensus bersama. Prosedur ini dirancang untuk memastikan bahwa hanya studi yang paling relevan dan berkualitas tinggi yang digunakan dalam analisis lebih lanjut.

Setelah proses seleksi artikel selesai dilakukan, tahap selanjutnya adalah ekstraksi data dari setiap studi yang memenuhi kriteria inklusi, mencakup informasi dasar seperti nama penulis dan tahun publikasi, serta rincian yang lebih spesifik terkait isi studi, yakni tujuan pe-

Gambar 1 Identifikasi penelitian berdasarkan basis data dan melalui eksklusi

nelitian, metode uji antibakteri yang digunakan, hasil aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*, dan simpulan utama dari masing-masing studi. Semua data yang diperoleh disusun secara sistematis dalam bentuk tabel deskriptif (Tabel 1). Tabel ini menjadi dasar untuk analisis naratif yang menggambarkan dan membandingkan hasil dari berbagai studi secara menyeluruh dan mendalam.

HASIL

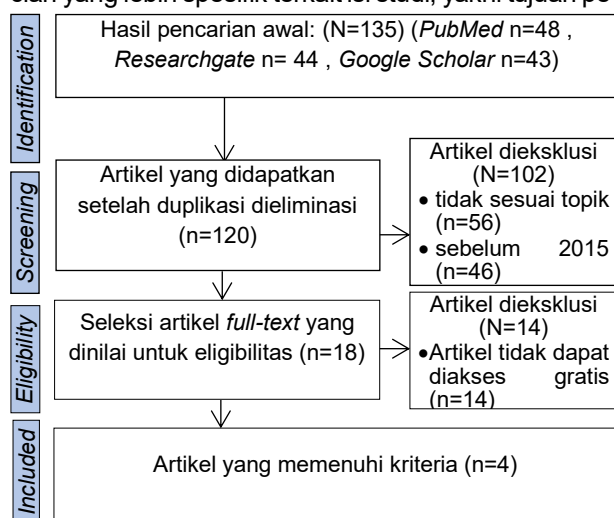
Dari pencarian diperoleh 135 artikel pada awalnya kemudian dieksklusikan sehingga didapatkan 10 artikel yang selanjutnya dikaji sesuai tujuan.

PEMBAHASAN

Actinomycetes laut memproduksi senyawa metabolit sekunder sebagai antimikroba baik sebagai antibakteri maupun antifungi yang terdistribusi pada berbagai sampel seperti pada sedimen dan air laut. Senyawa metabolit sekunder tersebut dapat diaplikasikan sebagai bahan antibiotik, agen biopestisida, antitumor, antivirus, antibakteri dan antifungi. Menurut Gohain dkk., *Actinomycetes* juga dikenal sebagai sumber enzim penting yang digunakan dalam bidang industri seperti enzim cellulase, xylanase, amylase, pectinase, protease dan chitinase.⁵

Penelitian oleh Ratnakomala dkk. mendapatkan sebanyak 29 isolat *Actinomycetes* yang berhasil diisolasi dari tiga sampel sedimen mangrove dan dievaluasi potensinya dalam memproduksi senyawa metabolit bioaktif. Hasil uji antimikroba menunjukkan sebanyak tujuh isolat memiliki daya hambat terhadap bakteri uji. Dari tujuh isolat, satu isolat memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji gram negatif *Escherichia coli*, sedangkan enam isolat lainnya menghambat bakteri gram positif *Bacillus subtilis* dan *S.aureus*.⁸ Penghambatan bakteri gram positif *S.aureus* tersebut dikarenakan *Actinomycetes* memiliki kemampuan untuk menghidrolisis ikatan peptida dalam protein keratin sehingga tercipta enzim keratinase. Enzim keratinase yang dimiliki *Actinomycetes* akan menempel pada permukaan *S.aureus* dan akan menargetkan protein permukaan serta komponen struktur dinding sel seperti protein A, peptidoglikan dan asam teikoat. Enzim tersebut kemudian memecah protein adhesin dan protein virulen permukaan yang mengganggu interaksi bakteri dengan permukaan host sehingga berkurang kemampuan virulensi dan kolonisasinya.⁸

Potensi antibakteri *Actinomycetes* laut terhadap *S.aureus* berkaitan erat dengan keberhasilan proses ekstraksi enzim keratinase yang mampu dihasilkan *Actinomycetes*. Dengan adanya enzim keratinase dari *Actinomycetes* sehingga mampu menjadi antibiotik terutama pada *S.aureus* dengan mendegradasi protein yang penting bagi kelangsungan hidup bakteri. Adapun tahapan ekstraksi enzim keratinase dari *Actinomycetes* laut sebagai antibiotik oral terdiri dari empat tahap yaitu isolasi *Actinomycetes* laut, produksi enzim keratinase, ekstraksi dan pemurnian enzim keratinase, dan karakterisasi enzim⁸



Tahapan ekstraksi enzim keratinase dari *Actinomycetes* laut sebagai calon antibiotik oral dilakukan melalui serangkaian prosedur laboratorium yang sistematis

Tabel 1 Hasil analisis systematic review dari *Actinomycetes* laut dan potensi antibakterinya terhadap *S.aureus*

Penulis, Tahun	Judul	Tujuan	Metode	Hasil	Simpulan
Kurniati DI dkk, 2019 ⁷	Isolasi dan Aktivitas Antibakteri <i>Actinomycetes</i> Berasosiasi dengan Koral	Mengisolasi <i>Actinomycetes</i> dari koral & menguji aktivitas antibakteri serta mengidentifikasi genusnya.	Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar terhadap 5 bakteri uji.	<i>Streptomyces</i> sp. BD2 menghasilkan zona hambat terhadap <i>E.coli</i> (21,8 mm), <i>V.cholerae</i> (15,8 mm), <i>S.aureus</i> (23 mm), <i>P.aeruginosa</i> (22,6 mm), <i>S.typhi</i> (24 mm).	<i>Actinomycetes</i> dari koral terbukti memiliki aktivitas antibakteri dan termasuk dalam genus <i>Streptomyces</i> .
Sedeek AM dkk, 2025 ⁸	<i>Genomic insights into biosynthesis and adaptation in the bioactive marine bacterium Streptomyces albidoflavus VIP</i>	Mengeksplorasi potensi biosintesis dan adaptasi <i>S.albidoflavus</i> VIP melalui analisis genomik.	Isolasi dari <i>Molgula citrina</i> , ekstraksi metabolit, uji antibakteri dan sitotoksitas, sekuensing genom, serta analisis BGCs.	Zona hambat terhadap <i>S.aureus</i> (15 mm), <i>P.aeruginosa</i> (20 mm), <i>C.albicans</i> (17 mm); tidak aktif terhadap <i>E.coli</i> .	<i>Streptomyces</i> VIP-1 berpotensi besar menghasilkan senyawa antibakteri baru, terutama terhadap bakteri Gram-positif.
Kumala T dkk, 2015 ⁹	Uji Aktivitas Antibakteri Isolat <i>Actinomycetes</i> 9ISP1 dari Spons Asal Perairan Pulau Randayan	Menilai kemampuan antibakteri dari isolat 9ISP1 yang bersimbiosis dengan spons.	Uji difusi agar terhadap 8 bakteri uji.	Zona hambat tertinggi pada <i>E.coli</i> (29,1 mm) & terendah pada <i>S.aureus</i> (13,5 mm); semua menunjukkan aktivitas positif.	Isolat <i>Actinomycetes</i> dari spons menunjukkan aktivitas antibakteri pada Gram positif & negatif
Pasmawati dkk, 2022 ¹⁰	Review Artikel: Keragaman <i>Actinomycetes</i> Laut Indonesia sebagai Sumber Senyawa Antibiotik Baru	Mengkaji keragaman dan potensi <i>Actinomycetes</i> laut Indonesia dalam menghasilkan senyawa antibakteri.	<i>Systematic Literature Review</i> .	Isolat laut Indonesia (dari spons, sedimen, alga, dll.) menunjukkan potensi antibakteri, termasuk terhadap MRSA & MDR <i>E.coli</i> .	<i>Actinomycetes</i> laut, khususnya genus <i>Streptomyces</i> , berpotensi sumber antibiotik baru dengan aktivitas antimikroba tinggi.

dan steril. Proses diawali dengan isolasi *Actinomycetes* laut dari berbagai sampel lingkungan laut seperti sedimen, air, spons laut, dan koral. Seluruh peralatan dan media yang digunakan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. Media disterilkan selama 15 menit, sementara peralatan selama 30 menit. Isolat kemudian diambil secara aseptik menggunakan jarum ose dan ditanam pada media *International Streptomyces Project 2 Agar* (ISP2 Agar) melalui teknik inokulasi titik. Selanjutnya, media diinkubasi pada suhu 27°C selama tiga hari untuk memungkinkan pertumbuhan koloni.⁸

Tahap berikutnya adalah produksi enzim keratinase, yang dilakukan setelah masa fermentasi selesai. Media difermentasi kemudian disentrifugasi untuk memisahkan biomassa. Aktivitas keratinolitik diamati melalui pembentukan *clear zone* di sekitar koloni, yang menandakan degradasi substrat keratin oleh enzim. Enzim yang dihasilkan kemudian diekstraksi dan dimurnikan melalui metode pengendapan protein menggunakan amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 40-80% yang disusul penghilangan kelebihan garam untuk menjaga stabilitas enzim dan mempertahankan aktivitas katalitiknya.⁸

Sebagai tahap akhir, karakterisasi enzim dilakukan untuk memastikan keberhasilan produksi enzim keratinase. Enzim tersebut mampu menghidrolisis keratin, ditunjukkan dengan perubahan warna media dari cokelat menjadi bening akibat pemecahan substrat keratin. Keberhasilan proses ini menunjukkan potensi besar en-

zim keratinase dari *Actinomycetes* laut sebagai agen antibakteri, khususnya terhadap *S.aureus*.⁸

Dari suatu penelitian oleh Kurniatidkk, dinyatakan bahwa ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening. Dari hasil uji aktivitas antibakteri tampak bahwa ekstrak enzim keratinase *Actinomycetes* memiliki aktivitas antibakteri terhadap 5 bakteri uji yaitu *E.coli*, *V.cholerae*, *P.aeruginosa*, *S.typhi* dan *S.Aureus*. Hal ini sejalan dengan penelitian Lee dan Hwang yang menyatakan bila diameter daerah hambatan sebesar 5,00-9,00 mm maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, 10,00-19,00 mm sedang dan lebih dari atau sama dengan 20,00 mm dikategorikan kuat sehingga isolat *Actinomycetes* kode BD2 dikategorikan kuat dalam menghambat *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *S.typhi*, dan dikategorikan sedang dalam menghambat *V.cholerae*.⁸ Penelitian oleh Harpeni menunjukkan bahwa isolat bakteri karang lunak dari genus *Briareum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji *S.aureus* sebesar 0,86 cm dan bakteri uji *E.coli* sebesar 2,60 cm. Penghambatan bakteri uji oleh ekstrak *Actinomycetes* diakibatkan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri.¹¹ Ekstrak *Actinomycetes* mampu menghambat sintesis protein bakteri melalui produksi senyawa antibiotik yang mampu mengikat subunit ribosom 30S atau 50S, menghambat inisiasi, elongasi serta pembentukan ikatan peptida dalam proses translasi sehingga menyebabkan kesalahan translasi serta membuat protein tidak fungsional. Hal terse-

but memiliki efek bakteri tidak bisa membuat protein vital dan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat. Selain dari itu, keratinase akan merusak protein permukaan dan membran luar bakteri sehingga terjadi stres struktural pada dinding sel dan mengakibatkan aktivasi autolisin secara berlebihan. Adanya aktivasi autolisin secara berlebihan akan mengakibatkan dinding sel bakteri terdegradasi sendiri.^{8,11}

Actinomycetes laut telah dilaporkan sebagai penghasil aktif metabolit sekunder, terutama yang memiliki aktivitas antimikroba. Metabolit mikroba ini bertindak sebagai pertahanan kimia untuk melindungi inangnya dari predator dan patogen. Penelitian oleh Sedeek dkk melaporkan bahwa ekstrak metabolik strain VIP-1 menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *C. albicans*.⁹ Hal ini dikarenakan *Actinomycetes* bersifat lipopeptida atau biosurfaktan seperti *surfactin-like compound*, komponen tersebut akan merusak integritas membran sel *S. aureus* sehingga akan memicu kebocoran ion, metabolit dan isi sitoplasma dari bakteri sehingga mekanisme tersebut akan bersifat bakterisidal cepat pada bakteri. Selain dari itu, senyawa rifamycin yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* akan menghambat RNA polimerase bakteri dan mengakibatkan protein tidak diproduksi sehingga menyebabkan *S. aureus* tidak dapat berkembang baik dan akan mengganggu komunikasi *quorum sensing* yang artinya bakteri tersebut kehilangan kemampuannya untuk menyerang inang atau mengatur faktor virulensinya.^{9,12}

Disimpulkan bahwa *Actinomycetes* laut memiliki potensi sebagai sumber enzim keratinase yang aktif dan stabil. Berbagai penelitian yang menguji potensi antibakteri ekstraksi enzim keratinase dari *Actinomycetes* terhadap *S. aureus* menunjukkan bahwa enzim keratinase tersebut mampu memberikan efek penghambatan signifikan, yang kemungkinan besar disebabkan oleh kemampuannya dalam mendegradasi protein struktur dinding sel bakteri serta mengganggu sistem pertahanan biofilm. Hasil ini mengindikasikan bahwa keratinase dari *Actinomycetes* laut tidak hanya berfungsi sebagai enzim biodegradasi, tetapi juga berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri alternatif, terutama terhadap bakteri patogen gram positif yang resisten terhadap antibiotik konvensional.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tkonuwu BA, Wewengkang DS, Rumondor E. Uji aktivitas antibakteri ekstrak alga *Halimeda opuntia* dari perairan Desa Poopoh Kabupaten Minahasa. *Pharmacon*. 2024;13(1):507-14.
2. Megumi AA, Benyamin RD, Wahyuningrat MW, Purnamasari DW, Rieuwpassa IE. Antibacterial effect of brown seaweed (*Eisenia bicyclis*) against *Staphylococcus aureus*. *Makassar Dent J* 2025;14(1):118-22.
3. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler JVG. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev* 2015; 228: 603-61
4. Armaida E, Siti Khotimah B. Karakterisasi *actinomycetes* yang berasosiasi dengan porifera (*Axinella* spp.) dari perairan Pulau Lemukutan Kalimantan Barat. *Protobiont* 2016;5(1).
5. Pasmawati, Fitriagustiani, Alang H. Review artikel: keragaman *actinomycetes* laut indonesia sebagai sumber senyawa antibiotik baru. *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan*. 2022; 9 (2): 80-88
6. Dansoko AS. Production and characterization of keratinase enzyme from natural isolate *Bacillus* Strains. *Open Access Library J* 2024;11(4):1-1.
7. Bhene P, Vertygo S, Sabuna C, Tang BY, Swari WD, Banggut ED. Uji katalitik enzim keratinase, lipase dan selulase isolat *actinomycetes* sd-5 dari perairan pantai mangrove oesapa, kupang yang berpotensi dikembangkan sebagai imbuhan pakan multienzim. *Partner*. 2024; 29(2): 238-52.
8. Kurniati DI, Ardiningsih P, Nofiani R. Isolasi dan aktivitas antibakteri *Actinomycetes* berasosiasi dengan koral. *Jurnal Kimia Khatulistiwa* 2019; 8(2): 46-51.
9. Sedeek AM, Elfeky H, Hanora AS, Solyman SM. Genomic insights into biosynthesis and adaption in the bioactive marine bacterium *Streptomyces albidoflavus* VIP-1 from the Red Sea. 2025; 25(1): 372.
10. Kumala T, Jayuska A, Ardiningsih P. Uji aktivitas antibakteri isolate *actinomycetes* 9isp1 dari spons asal perairan Pulau Randayan. *JKK*. 2015; 4(2): 30-36.
11. Liaqat I, Ali S, Butt A, Durrani AI, Zafar U, Saleem S, et. al. Purification and characterization of eratinase from *Bacillus lichiniiformis* dcs1 for poultry waste processing. *J Oleo Sci* 2022; 71(5): 693-9
12. Blunt J. Marine natural products. *Natural Product Reports*. 2018; 35 (1): 8-53