

**SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK BUAH MANGROVE (*Sonneratia alba*) SEBAGAI
BIOENRICHMENT PAKAN ALAMI *Artemia salina***

**PHYTOCHEMICAL SCREENING OF MANGROVE FRUIT EXTRACT (*Sonneratia alba*)
AS NATURAL FEED BIOENRICHMENT *Artemia salina***

Jimmy Cahyadi¹, Gloria Ika Satriani², Ery Gusman³, Encik Weliyadi⁴, Sabri⁵

¹⁾ Budidaya Perairan Fakultas, Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan

²⁾ Manajemen Sumberdaya Perairan, Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan
Jl. Amal Lama No.1 Tarakan KAL-TARA

Email : jim.borneo@gmail.com³; gloria.ubt@gmail.com⁴; erygoodguy@gmail.com⁵

ABSTRAK

Penelitian mengenai skrining fitokimia terhadap ekstrak buah mangrove pedada (*Sonneratia alba*) telah dilakukan. Buah pedada (*Sonneratia alba*) diperoleh dari mangrove pesisir Kota Tarakan, Kalimantan Utara. Data yang dianalisis meliputi kondisi simplisia, rendemen, ekstraksi dan skrining fitokimia pada *Artemia salina* non bioenrichment maupun pasca bioenrichment. Prosedur pembuatan simplisia melalui sortasi basah dan kering, analisa rendemen berdasarkan rasio bobot, ekstraksi buah pedada (*Sonneratia alba*) berdasarkan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, dan skrining fitokimia dilakukan melalui pengujian warna menggunakan berbagai pereaksi. Teknik analisa data dilakukan secara kualitatif deskriptif. Hasil penelitian menyimpulkan bahwa ekstrak pasta kental (*Sonneratia alba*) positif mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, steroid dan tripernoid pada bioenrichment dan senyawa steroid dan tanin negatif pada non bioenrichment.

Kata Kunci : Fitokimia Ekstrak *Sonneratia alba*, Bioenrichment, *Artemia salina*

ABSTRACT

Research on phytochemical screening of mangrove pedada fruit extract (*Sonneratia alba*) has been carried out. Pedada fruit (*Sonneratia alba*) is obtained from the coastal mangroves of Tarakan City, North Kalimantan. The analyzed data included the condition of simplicia, yield, extraction and phytochemical screening in *Artemia salina* non bioenrichment or post bioenrichment. The procedure of making simplicia through wet and dry sorting, yield analysis based on weight ratio, pedada fruit extraction (*Sonneratia alba*) based on maceration techniques using 96% ethanol solvent, and phytochemical screening was carried out through color testing using various reagents. Data analysis techniques are carried out qualitatively qualitative. The results of the study concluded that the thick paste extract (*Sonneratia alba*) positively contained alkaloids, flavonoids, tannins, steroids and tripernoids on bioenrichment and negative steroid and tannin compounds on non bioenrichment.

Key Words : Phytochemical Extract *Sonneratia alba*, Bioenrichment, *Artemia salina*

PENDAHULUAN

Upaya pencapaian hasil produksi pada usaha budidaya udang windu (*Penaeus monodon*) nampaknya masih

menemukan berbagai permasalahan. Salah satu permasalahan yang ditemukan adalah tingginya tingkat serangan penyakit baik yang bersifat

infeksius maupun non-infekeius. Berbagai jenis penyakit pada budidaya udang windu sebageian besar diakibatkan oleh infeksi bakteri *Vibrio harveyi* (Trianto *et al.*, 2004).

Serangan penyebab vibriosis tersebut sering terjadi pada stadia nauplius, stadia zoea, stadia mysis dan kadang-kadang post larva saat pemeliharaan di tambak sampai sekitar umur 1-1,5 bulan (Saptiani *et al.*, 2012). Bakteri *Vibrio harveyi* umumnya bersifat patogen oportunistik, yaitu organisme yang dalam keadaan normal ada dalam lingkungan pemeliharaan dan berkembang dari sifat saprofitik menjadi patogenik, apabila kondisi lingkungan dan inang memburuk (Diggles *et al.*, 2000).

Beberapa penelitian penggunaan bahan herbal atau fitofarmaka telah dilakukan pada biota akuatik, seperti yang telah dilakukan Maryani *et al.*, (2002) yaitu peneliti menggunakan ekstrak kelopak dan buah mangrove *Sonneratia caseolaris* sebagai antibakterial terhadap infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu (*Penaeus monodon*).

Ekstrak pasta kental etanol *Sonneratia alba* memiliki kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, triterpenoid, karbohidrat, karotenoid, tannin, dan kumarin berdasarkan penelitian Satriani, *et al.* (2017). Analisa fitokimia terhadap sampel ekstraksi etanol buah pedada diketahui bahwa bahan aktif yang terkandung dalam pasta tersebut berpeluang sebagai kandidat anti bakteri. Beberapa penelitian melaporkan bahwa mangrove memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. Harveyi*. Naiborhu *et al.*, (2002) menyatakan bahwa ekstrak daun, kelopak, buah dan biji *Sonneratia caseolaris* mampu membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Tumbuhan ini mengandung senyawa bioaktif seperti *flavonoid*, *steroid*, *fenol hidrokuinon* dan *tanin* yang aktif sebagai bahan antimikroba.

Menurut Satriani *et al.*, (2017) hasil pengujian fitokimia ekstrak buah pedada (*Sonneratia alba*), hanya senyawa

saponin yang tidak terkandung pada ekstrak buah pedada. Umumnya senyawa saponin terkandung pada tanaman yang memiliki cita rasa pahit seperti daun pepaya dan buah pare sedangkan buah pedada memiliki cita rasa asam yang hampir serupa dengan cita rasa asam jawa.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh ekstrak buah mangrove (*Sonneratia alba*) sebagai *bioenrichment* pakan alami melalui *Artemia salina*. Hasil penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai manfaat ekstrak buah mangrove *Sonneratia alba* dalam menekan penyakit vibriosis (*Vibrio harveyi*) pada benur udang windu melalui pemberian *bioenrichment* pada pakan alami *Artemia salina*.

METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan pada awal Tahun 2018.

Adapun tahapan penelitian ini meliputi 5 kegiatan yaitu pembuatan simplisia *Sonneratia alba*, ekstraksi, rendemen, analisa fitokimia, dan *bioenrichment Artemia salina*. Proses pengambilan sampel buah *Sonneratia alba* meliputi tahapan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan serta ekstraksi. Adapun proses sebagai berikut:

a. Simplisia dan Ekstraksi Buah *Sonneratia alba*

Pengambilan sampel buah mangrove *S. alba* menggunakan metode *Purposive sampling* bertempat di Pantai Amal Lama, Kota Tarakan. Buah *S. alba* yang diambil adalah yang masih muda sebanyak 35 kg, dengan kriteria buah berwarna hijau muda dengan ukuran 2-3 cm. Buah pedada (*S. alba*) diambil sesuai dengan kebutuhan kemudian dicuci bersih dengan air mengalir, setelah itu dipotong-potong kecil dan dikering-anginkan untuk mempercepat pengeringan dilakukan pengovenan dengan suhu konstan

40°C selama 3 hari. Selanjutnya buah yang sudah kering dihaluskan menjadi simplisia pada proses maserasi.

Proses maserasi dilakukan dengan merendam simplisia ke dalam larutan etanol 96% dengan perbandingan simplisia dan etanol adalah 1:4, selanjutnya di aduk menggunakan *magnetic stirer* dan didiamkan dalam *glass beaker* tertutup selama 3x24 jam yang bertujuan agar seluruh bagian dari simplisia yang berukuran kecil dapat bersinggungan secara optimal dengan pelarut sehingga memudahkan bahan aktif yang terkandung di dalam simplisia tertarik keluar dan memperluas permukaan singgung antara bahan dan pelarut.

Selanjutnya di hari terakhir proses maserasi dilakukan penyaringan antara larutan dan ampas simplisia menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Larutan filtrat yang diperoleh dari hasil maserasi diproses lebih lanjut menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk memisahkan bahan aktif dan pelarut

etanol 96% sehingga diperoleh ekstrak pekat berbentuk pasta encer yang mengandung bahan fitofarmaka. Pasta encer yang terbentuk selanjutnya diuapkan dengan oven pada suhu 40°C secara konstan selama 3x8 jam sampai diperoleh pasta kental *S. alba* (Puspitasari dan Proyogo, 2016).

b. Rendemen

Rendemen ekstrak merupakan hasil dari proses maserasi dan evaporasi simplisia yang berbentuk tepung berdasarkan rasio antara berat ekstrak yang dihasilkan dengan simplisia yang digunakan. Kualitas ekstrak yang dihasilkan biasanya berbanding terbalik dengan jumlah rendemen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin rendah mutu yang didapatkan. Adapun rumus untuk menghitung rendemen sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat yang diperoleh (gr)}}{\text{Berat sampel (gr)}} \times 100\%$$

c. Fitokimia

Pengujian fitokimia pada *bioenrichment* artemia secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui apakah artemia menyerap ekstrak yang diberikan pada saat perendaman selama 24 jam. Adapun prosedur pengujian fitokimia *bioenrichment* artemia dapat dilihat sebagai berikut:

Uji alkaloid (Harbone, 1987)

Adapun pengujian *alkaloid* dilakukan menggunakan preaksi wagner dibuat dengan cara 2,5 gr iodine dan 2 gr KI dilarutkan dengan aquades sebanyak 100 mL selanjutnya dilakukan pengambilan sampel sebanyak 0,01 gr sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2N dan ditambahkan dengan preaksi wagner. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk endapan coklat.

Uji fenol hidrokuinon (Harbone, 1987)

Preaksi *fenol hidrokuinon* dibuat dengan cara melarutkan 0,01 gr sampel dalam 1 mL etanol 70%, kemudian ditambahkan dengan larutan FeCl_3 5% sebanyak 2 tetes. Hasil uji dinyatakan positif apabila ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru.

Uji flavonoid (Harbone, 1987)

Preaksi *flavonoid* dibuat dengan cara melarutkan 0,01 gr sampel dan 0,1 mg serbuk magnesium dengan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 96% dengan volume yang sama), kemudian ditambahkan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Hasil uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga.

Uji saponin (Harbone, 1987)

Saponin dapat terdeteksi dengan uji busa dalam air panas, busa yang stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2N menunjukkan adanya saponin.

Uji steroid (Indarto, 2011)

Pengujian steroid dilakukan dengan cara 2 mg sampel di tambahkan dengan 20 mL metanol yang mengandung 2 mL asam sulfat kemudian dididihkan, setelah itu ditambahkan 2 mL asam asetat. Hasil positif apabila terjadi perubahan warna menjadi hijau atau biru.

Uji Tanin (Indarto, 2011)

Pengujian *tanin* dilakukan dengan melarutkan ekstrak dengan aquades kemudian dididihkan selama 5 menit, setelah dingin tetesi dengan reagen FeCl_3 1% sebanyak 3-5 tetes. Hasil positif apabila terjadi perubahan warna menjadi hitam-biru, biru, atau hijau.

d. Bioenrichment Artemia

Kista artemia ditimbang sebanyak 0.5 gram lalu ditetaskan dalam 1 liter air bersalinitas 32 mg/L dan diaerasi kuat selama 24 jam kemudian dipanen. Pemanenan dilakukan dengan menyipon artemia pada kolom air. Berdasarkan hasil pengujian BSLT (Cahyadi *et al*, 2017) ekstrak *Sonneratia alba* pada *Artemia salina* menunjukkan hasil LC_{50} sebesar konsentrasi 20 ppm maka aplikasi *bioenrichment* ekstrak etanol buah mangrove *Sonneratia alba* sebesar konsentrasi 20 ppm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia dan Ekstraksi

Bahan baku buah pedada yang didapatkan dari kawasan pesisir pantai amal lama selanjutnya dipreparasi sehingga menjadi simplisia untuk digunakan dalam proses maserasi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang ada. Proses ekstraksi yang digunakan pada umumnya menggunakan metode maserasi dikarenakan prosedur dan peralatannya sederhana. Proses maserasi yang dilakukan pada Gambar 5 menggunakan bahan baku simplisia buah pedada dengan pelarut etanol 96% perbandingan (1:4) selama 3x24 jam.

Simplisia yang telah direndam selama 3x24 jam difiltrasi menggunakan kertas saring sehingga didapatkan hasil filtrasi sebanyak 250 ml, selanjutnya dilakukan evaporasi menggunakan alat *rotary evaporator* yang bertujuan memisahkan bahan aktif dengan pelarut etanol hingga dihasilkan ekstrak pekat berbentuk pasta encer yang selanjutnya dioven pada suhu 60°C konstan selama 3x8 jam untuk mendapatkan pasta kental yang digunakan untuk proses pengujian selanjutnya.

Rendemen Ekstrak Buah *S. alba*

Rendemen merupakan perbandingan jumlah bobot awal sampel dengan jumlah bobot akhir setelah menjadi ekstrak. Hasil rendemen dari ekstrak buah *S. alba* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji Rendemen Ekstrak Buah *S. alba*

Sampel	Bobot Awal (gr)	Bobot Ekstrak (gr)	Bobot Rendemen (%)
Ekstrak Buah <i>S. alba</i>	100	6,59	6,59

Hasil rendemen ekstrak buah *S. alba* pada Tabel 1 dengan menggunakan pelarut etanol 96% didapatkan nilai sebesar 6,59%, Nilai bobot rendemen ini tergolong tinggi bila dibandingkan dengan hasil rendemen ekstrak *Avicenia marina* dalam penelitian Oktafiani (2018), yaitu sebesar 3,36 % dengan

menggunakan pelarut yang sama etanol 96%. Menurut Ismet (2007), menyatakan bahwa faktor-faktor berpengaruh terhadap proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu, dan jenis pelarut yang digunakan.

Fitokimia

Berdasarkan hasil uji fitokimia secara kualitatif pada Tabel 1 menunjukkan bahwa *bioenrichment Artemia salina* yang diberikan perlakuan perendaman ekstrak buah *S. alba* menunjukkan hasil positif mengandung senyawa *alkaloid, flavonoid, saponin, steroid* serta *fenol* sedangkan *tanin* negatif atau tidak terdeteksinya warna pada saat pengujian, hasil negatif yang dihasilkan pada uji *tanin* diduga karena kandungan senyawa tanin merupakan senyawa

yang dapat mengikat protein membentuk ikatan kompleks protein tanin sehingga artemia yang memiliki kandungan protein yang tinggi tidak dapat menyerap ekstrak *S. alba* (Zamsari, et al., 2012).

Uji Fitokimia dilakukan secara kualitatif (*alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, steroid, dan tanin*) pada hasil *bioenrichment* dan non *bioenrichment* pada *Artemia salina* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Fitokimia

Parameter	Ekstrak <i>S. alba</i> (Paputungan et al., 2017)	<i>Bioenrichment</i>	Non <i>Bioenrichment</i>	Indikator
Alkaloid	+++	+++	+++	Terbentuknya Edapan berwarna coklat (Harbone,1987)
Fenol hidrokuinon	+++	+++	+	Terbentuknya warna coklat (Harbone,1987)
Flavonoid	+++	+++	+++	Terbentuknya busa (Harbone, 1987)
Saponin	+++	+++	+++	Terbentuknya warna jingga (Harbone,1987)
Steroid	+++	++	-	Terbentuknya warna biru (Indarto, 2011)
Tanin	+++	-	-	Terbentuknya warna hitam biru, biru dan hijau (Indarto, 2011)

Keterangan : +++ (sangat kuat), ++ (kuat), + (kurang kuat), - (tidak terkandung)

Pada artemia non *bioenrichment* juga terdapat beberapa senyawa yang positif sama yang terkandung dalam ekstrak buah *S. alba* akan tetapi pada senyawa *steroid* dan *tanin* negatif. Beberapa senyawa yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri seperti pada senyawa *alkaloid* memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun *peptidoglikan* pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina, 2008).

Mekanisme senyawa *fenol* sebagai antibakteri pada konsentrasi rendah adalah dengan merusak membran

sitoplasma dan dapat menyebabkan kebocoran dari inti sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi senyawa *fenol* berkongulasi dengan protein seluler sehingga aktivitas tersebut sangat efektif ketika bakteri dalam tahap pembelahan dimana lapisan *fosfolipid* di sekeliling sel sedang dalam kondisi sangat tipis sehingga senyawa *fenol* dapat dengan mudah merusak isi sel (Volk and Wheller, 1984).

Menurut Sabir (2005), Senyawa *flavonoid* memiliki mekanisme kerja sebagai anti bakteri yaitu dapat merusak permeabilitas dinding sel mikroba yakni kemampuan untuk berikatan dengan protein fungsional sel dan DNA sehingga mampu menghambat pertumbuhan

mikroba. Senyawa *steroid* banyak terdapat di alam sebagai fraksi *lipid* dari tanaman atau hewan. Zat ini sangat penting sebagai pengatur aktivitas biologis dalam organisme hidup. *Steroid* merupakan senyawa yang terdapat pada lapisan lilin daun dan buah yang berfungsi sebagai pelindung dari serangga dan serangan mikroba (Harbone, 1987).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil uji fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa *bioenrichment Artemia salina* yang diberikan perlakuan perendaman ekstrak buah *Sonneratia alba* menunjukkan hasil positif mengandung senyawa *alkaloid, flavonoid, saponin, steroid* serta *fenol* sedangkan *tanin* negatif atau tidak terdeteksinya warna pada saat pengujian, sementara pada *Artemia salina non bioenrichment* juga terdapat beberapa senyawa yang positif sama yang terkandung dalam ekstrak buah *S. alba* akan tetapi pada senyawa *steroid* dan *tanin* negatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini serta kepada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Borneo Tarakan yang telah memberi dukungan materil serta moril kepada peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

Cahyadi, J., Satriani, GI., Gusman, E., 2017. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol *Sonneratia alba* Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) Pada *Artemia salina*. Prosiding Semnas Saling Didik IV Universitas Borneo Tarakan Volume 2 Tahun 2017. ISSN:2548-9615. Halaman 490-493.
<https://drive.google.com/file/d/1I>

[pOXQ2Ci_agUBoWpPtAC4QghCCaTG8wm/view](https://doi.org/10.24127/pOXQ2Ci_agUBoWpPtAC4QghCCaTG8wm/view).

- Diggles, B. K., Moss, G. A., Carson, J. and Anderson, C. D. 2000. *Vibrio Species Associated With Mortalities In Hatchery-reared Turbot (Colistium nudipinnis) and Brill (C. guntheri) In New Zealand. Jurnal Aquaculture.* Pp 183: 1-12.
- Harborne, J. B. 1987. Uji Aktivitas Antibakteri dan Uji Fitokimia Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Aquawarman.* Vol. 2 (1) : hlm 43-50. ISSN: 2460-9226.
- Indarto. 2011. Uji Kualitatif dan Kuantitatif Golongan Senyawa Organik dari Kulit dan Kayu Batang Tumbuhan Artocarpus dadah Miq.
- Ismet, M. S. 2007. Penapisan Senyawa Bioaktif Spons Aaptos dan Petrosia sp Dari Lokasi Yang Berbeda. (Tesis). Bogor. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Juliantina, F. R. 2008. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *JKKI-Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.*
- Maryani, D. Dana, dan Sukenda. 2002. Peranan Ekstrak Kelopak dan Buah Mangrove *Sonneratia caseolaris* (L) terhadap Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi* pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab). *Jurnal Akuakultur Indonesia.*, 1 (2) : 129-130.
- Naiborhu, P.E. (2002). *Ekstraksi Dan Manfaat Ekstrak Mangrove (Sonneratia Alba Dan Sonneratia Caseolaris) Sebagai Bahan Alami Antibakterial Pada Patogen Udang Windu, Vibrio Harveyi.* Tesis, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor. 63 hal.
- Puspitasari, A. D., Proyogo, L. S. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*).

- Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*.
ISSN 2528-5912.
- Satriani, G.I., Cahyadi, J., Juliana, E.N.,
2017. Eksatraksi Etanol Buah
Pedada (*Sonneratia alba*) Dalam
Menghambat Pertumbuhan *Vibrio*
harveyi Secara *In Vitro*.
Semnaskan IV FPIK Universitas
Nusa Cendana Kupang. ISBN
978-602-6906-39-7) halaman
105.
<http://fkp.nusacendana.net>.
- Sabir, A. 2005. Aktivitas Antibakteri
Flavonoid propolis, Trigonas sp.
Terhadap Bakteri *Streptococcus*
mutans (in vitro). *Jurnal*
Kedokteran Gigi. Vol.38, No.3,
Hal.135-141.
- Saptiani, G., Prayitno., dan Anggoro, S.
2012. Aktivitas Antibakterial
Ekstrak Daun *Sonneratia alba*
Terhadap *Vibrio harveyi* Pada
Benur Udang Windu (*Penaeus*
monodon). *Jurnal Aquawarman*.
Vol 2 (2) : 35-44. ISSN : 2460-
9226.
- Trianto, Agus, W. Edi, Suryono, S. dan
Rahayu S. 2004. Ekstrak Daun
Mangrove *Aegiceras corniculatum*
Sebagai Antibakteri *Vibrio harveyi*
dan *Vibrio parahaemolyticus*.
Jurnal Ilmu Kelautan. Universitas
Diponegoro. Semarang, 9 (4):
186-189.
- Volk dan Wheeler. 1984. "*Mikroba*
Dasar". Jilid I Penerjemah:
Markhman. Edisi Kelima.
Penerbit: Erlangga. Jakarta.
- Zamsari, M., Sunarso., Sutrisno. 2012.
Pemanfaatan Tanin Alami dalam
memproteksi protein bungkil
kelapa ditinjau dari fermentabilitas
protein secara IN VITRO. *Animal*
Agriculture Journal, Vol. 1. No. 1,
2012, p 405-416. Universitas
Diponegoro.