



IDENTIFIKASI PIGMEN KAROTENOID PADA BAKTERI SIMBION RUMPUT LAUT *Caulerpa cupressoides* (Vahl) C. Agardh

Nurul Ria Arlita^{*}), Ocky Karna Radjasa, Adi Santoso

*Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Kampus Tembalang, Semarang Jawa Tengah, Indonesia, 50275
Telp/Fax. 024-7474698, email: nurulriaarlita@gmail.com*

Abstrak

Salah satu pigmen alami yang banyak dijumpai selain klorofil adalah karotenoid, dimana karotenoid ini memiliki dua kelas utama yaitu Xantofil dan Karoten yang penting bagi kesehatan manusia seperti provitamin A, anktioksidan, antikanker, dan meningkatkan respon imunitas. Karotenoid merupakan pigmen kuning, orange sampai merah yang dapat ditemukan mulai dari manusia, hewan, tumbuhan tingkat tinggi, buah, alga, jamur maupun bakteri. Bakteri simbion memiliki pigmen yang hampir sama dengan inangnya, dimana terdapat simbiosis mutualisme diantara keduanya. Penggunaan kultur murni dari mikroba yang diisolasi dari lingkungan laut diharapkan mampu dikultivikasikan secara banyak dan dalam waktu yang relatif cepat. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jenis pigmen karotenoid dari bakteri simbion rumput laut *Caulerpa cupressoides* serta untuk mengidentifikasi jenis bakteri simbion penghasil pigmen karotenoid. Analisis pigmen menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengamatan morfologi bakteri dan uji biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 13 bakteri simbion yang berhasil diisolasi dari Perairan Teluk Awur Jepara terdapat 2 bakteri yang mengandung pigmen karotenoid yaitu CJ.K dan CJ.OR. Bakteri CJ.K mengandung pigmen Violaxanthin dan Neoxanthin. Sedangkan untuk bakteri CJ.OR mengandung pigmen Xantofil, Diadinoxanthin, γ -karoten, dan β -karoten. Hasil identifikasi bakteri dengan uji biokimia menunjukkan bahwa bakteri CJ.K merupakan *Brevibacterium maris* dan bakteri CJ.OR merupakan *Paracoccus alcaliphilus*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat berbagai jenis pigmen karotenoid yang ditemukan dalam bakteri yang bersimbion dengan rumput laut *Caulerpa cupressoides*.

Kata Kunci: Bakteri simbion; *Caulerpa cupressoides*; Karotenoid; KCKT; Uji biokimia

Abstract

One of natural pigments besides Chlorophyll is carotenoid that has two classes, namely Xanthophyll and Carotene that have important roles for human health like provitamin A, antioxidant, anticancer, and to improve the better immune responses. Carotenoids are yellow pigments, orange to red pigments that can be found in human, animals, high level plants, fruits, algae, fungi and bacteria. Bacterial symbionts produce pigments that are similar with their host. Pure cultures from marine microbial community can be isolated and cultivated in big scale in relatively short time. The purpose of this study was to as well as isolate and to identify pigments carotenoid from bacterial symbionts from seaweed *Caulerpa cupressoides* to identify bacterial symbionts that produce carotenoid pigments. Pigment analysis was performed by UV-Vis spectrophotometer and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Bacterial identification was performed based on biochemical tests. These results showed that from 13 bacterial symbionts isolated from Teluk Awur Waters, there were 2 isolates that positively synthesize carotenoids pigments, CJ.K and CJ.OR bacteria respectively, CJ.K bacterium contained of Violaxanthin and Neoxanthin pigments. While CJ.OR bacterium contained of Xanthophyll, Diadinoxanthin, γ -carotene, and β -carotene pigments. Bacterial identification showed that CJ.K bacterium was *Brevibacterium maris* and CJ.OR bacterium was *Paracoccus alcaliphilus*. This result showed that found some carotenoid pigments from bacterial symbiont of seaweed *Caulerpa cupressoides*.

Keywords: Bacterial symbiont; *Caulerpa cupressoides*; Carotenoids; HPLC; Biochemical tests

*) Penulis penanggung jawab



Pendahuluan

Sekarang ini, mulai banyak penelitian yang dilakukan mengenai pigmen baik yang berasal dari darat maupun dari laut yang menjadi sumber pigmen alami terbarukan dan berkelanjutan. Salah satu jenis sumber pigmen alami selain klorofil adalah karotenoid yang memiliki potensi yang besar baik pada masa sekarang maupun masa depan. Rumput laut, terumbu karang, alga dan bakteri serta organisme laut lainnya mampu menghasilkan senyawa bioaktif pigmen karotenoid. Bauernfied (1981), Britton and Goodwin (1982) telah memanfaatkan karotenoid dalam bidang kesehatan dan memanfaatkan karotenoid sebagai sumber pewarna makanan karena kandungan warna merah, orange, dan kuning yang dimilikinya. Sebanyak lebih dari 700 struktur berbeda dari karotenoid (Stafnes et al., 2010) dan terdapat 40 jenis karotenoid telah ditemukan dan dapat berfungsi sebagai provitamin A. Alga merupakan jenis organisme laut yang mampu menghasilkan pigmen alami sendiri, selain itu bakteri merupakan salah satu organisme yang dapat dijadikan sumber pigmen alami (Stahl and Sies, 2003).

Caulerpa sp. yang termasuk kedalam jenis alga hijau ini diketahui merupakan sumber dari produk senyawa bioaktif yang berpotensi besar sebagai sumber pigmen alami, yang banyak dimanfaatkan sebagai senyawa bioaktif dan berpotensi sebagai antitumor, antiviral, antimikroba dan lain-lain. *Caulerpa cupressoides* yang merupakan salah satu jenis dari alga hijau yang belum secara maksimal dimanfaatkan padahal keberadaannya yang melimpah khususnya di Indonesia (Atmadja, 2009). Mikroorganisme laut memiliki kemampuan yang besar dan tersembunyi sebagai sumber pigmen alami yang ramah lingkungan. Pengetahuan ini diperlukan karena mikroorganisme yang bersimbiosis dengan rumput laut diharapkan

mampu memberikan kontribusi yang besar sebagai sumber alternatif terbarukan untuk menghasilkan sumber pigmen alami baru seperti klorofil dan karotenoid dalam bidang kesehatan maupun industri (Radjasa, 2007). Bakteri simbion memiliki pigmen yang hampir sama dengan inangnya, dimana terdapat simbiosis mutualisme diantara keduanya. Penggunaan kultur murni dari mikrobia yang diisolasi dari lingkungan laut diharapkan mampu dikultivikasikan secara banyak dan dalam waktu yang relatif cepat.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jenis pigmen karotenoid dari bakteri simbion rumput laut *C. cupressoides* serta untuk mengidentifikasi jenis bakteri simbion penghasil pigmen karotenoid.

Materi dan Metode

a. Pengambilan sampel dan isolasi bakteri simbion

Sampel rumput laut *C. cupressoides* diambil dari Perairan Teluk Awur Jepara pada kedalaman 0,5 - 1 meter dengan menggunakan pisau kemudian dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan sementara dalam cool box. Sampel dibersihkan dengan menggunakan air laut steril untuk menghilangkan kotoran, maupun organisme epifit yang menempel pada permukaannya dan diambil sebanyak ± 1gram sampel rumput laut *C. cupressoides* dari bagian ramuli yang berwarna hijau kekuning-kuningan. Selanjutnya dilakukan pengenceran 10^0 hingga 10^5 . Kemudian diambil sebanyak 100 μL dari pengenceran 10^3 , 10^4 , dan 10^5 kemudian disebar pada permukaan media Zobell 2216E dengan menggunakan spreader dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C (Radjasa et al., 2003). Koloni bakteri yang berwarna juning (CJ.K) dan yang berwarna orange (CJ.OR) di seleksi dan dipurifikasi.

b. Ekstraksi pigmen bakteri simbion

Bakteri simbion yang dikultur pada media Zobell 2216E diambil dengan menggunakan jarum ose dan dimasukkan dalam tabung Eppendorf yang berisi pelarut metanol untuk memisahkan antara bakteri dengan pigmennya. Supernatan diambil dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam botol vial kemudian dikeringkan dengan gas N₂ sehingga diperoleh ekstrak kasar pigmen karotenoid yang selanjutnya ditambahkan sebanyak ± 5mL asetonitril.

c. Identifikasi dan analisis kandungan pigmen karotenoid

Pigmen diidentifikasi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis CARY 50 pada panjang gelombang 400-600 nm dan juga menggunakan KCKT Shimadzu LC 20-AB fase terbalik ODS, C18, 5 µm, diameter 4mm x 25mm dengan fase gerak metanol dan asetonitirl dengan perbandingan 7:3 (v:v). Deteksi pigmen dilakukan pada panjang gelombang 190-800 nm dengan kecepatan alir 1 mL/menit dan tekanan 1000 psi (Maeda, 2005).

d. Identifikasi bakteri simbion

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengamatan morfologi dan uji biokimia berdasarkan Cowan and Steels (1974) dan Bergey's (2005). Pengamatan morfologi meliputi pengamatan koloni bakteri, pengecatan gram, pengamatan spora, dan pengamatan motilitas.

Uji biokimia meliputi uji H₂S, uji an aerobik, uji aerobik, uji aerogenik, uji glukosa, uji laktosa, uji manitol, uji arabinosa, uji sukrosa, dan uji fruktosa, uji indol, uji katalase, uji oksidase, uji gelatin, dan uji NO₃.

Hasil dan pembahasan

a. Pengambilan sampel dan isolasi bakteri simbion

Sampel rumput laut *C. cupressoides* yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai warna hijau dengan ujung ramuli kekuning-kuningan, stolon yang panjang membentuk percabangan ramuli yang memanjang dan bergerigi (spiral) (Gambar 1.)

Hasil isolasi bakteri dalam cawan petri menghasilkan 13 koloni bakteri yang mengandung pigmen karotenoid yang berwarna kuning (CJ.K) dan yang berwarna orange (CJ.OR). Hasil isolasi bakteri simbion rumput laut *C. cupressoides* disajikan pada Tabel 1.



Gambar 1. Rumput Laut *C. cupressoides*.

No.	Kode bakteri	Warna	Bentuk	Tekstur
1.	CJ.P1	Putih Susu	Bulat Sedang	Halus
2.	CJ.K1	Kuning Tua	Bulat Sedang	Halus
3.	CJ.OR1	Orange Muda	Bulat Kecil	Halus
4.	CJ.1	Tidak Berwarna	Tidak Beraturan	Kasar
5.	CJ.B1	Bening	Lonjong	Halus
6.	CJ.P2	Putih Susu	Tidak Beraturan	Halus
7.	CJ.K2	Kuning Muda	Bulat Kecil	Halus
8.	CJ.2	Tidak Berwarna	Bulat Sedang	Kasar
9.	CJ.P3	Putih Susu	Bulat kecil	Kasar
10.	CJ.3	Tidak Berwarna	Bulat Kecil	Kasar
11.	CJ.P4	Putih Susu	Lonjong	Halus
12.	CJ.4	Tidak Berwarna	Lonjong	Halus
13.	CJ.P5	Putih Susu	Lonjong	Kasar

Tabel 1. Karakter Morfologi Bakteri Symbion Rumput Laut *C. cupressoides*

b. Ekstraksi pigmen bakteri simbion

Hasil ekstraksi pigmen karotenoid pada bakteri simbion rumput laut *C. cupressoides* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pigmen Hasil Ekstraksi CJ.K Warna Kuning (Kanan) dan CJ.OR Warna Orange (Kiri).

c. Identifikasi dan analisis kandungan pigmen karotenoid

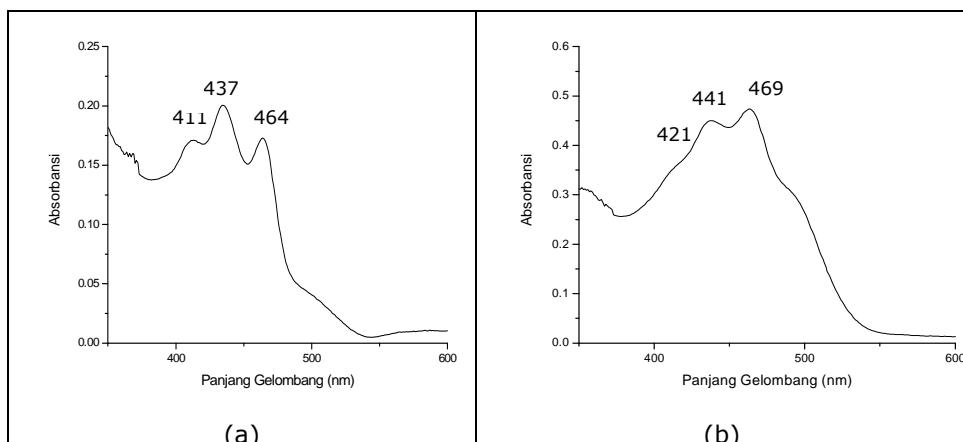
Hasil analisis ekstrak kasar pigmen bakteri simbion CJ.K dan CJ.OR dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh pola spektra

dengan 3 puncak pada panjang gelombang 400-500 nm (Gambar 3.) yang diindikasi sebagai pigmen karotenoid (Gross, 1991).

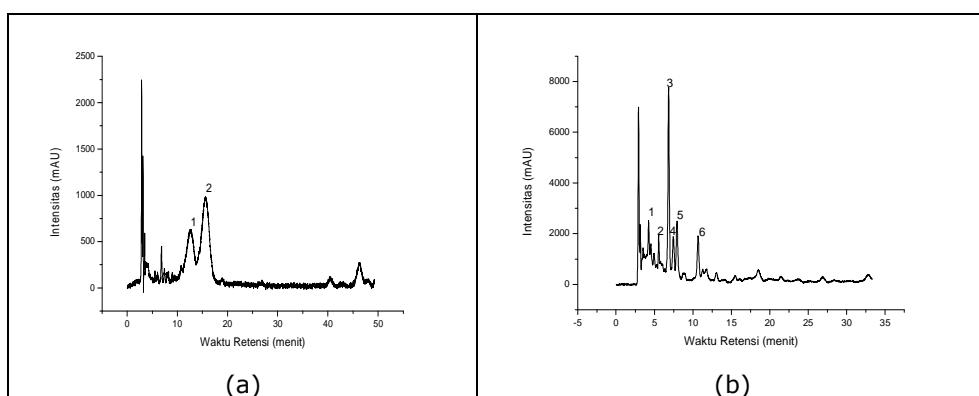
Hasil analisis menggunakan KCKT diperoleh 2 peak dominan pada bakteri simbion CJ.K dan 6 peak dominan pada bakteri simbion CJ.OR (Gambar 4.)

Hasil analisis menggunakan KCKT pada bakteri simbion CJ.K menghasilkan 2 peak yang disajikan pada Gambar 5 . Sedangkan hasil analisis menggunakan KCKT pada bakteri simbion CJ.OR menghasilkan 6 peak yang disajikan pada Gambar 6.

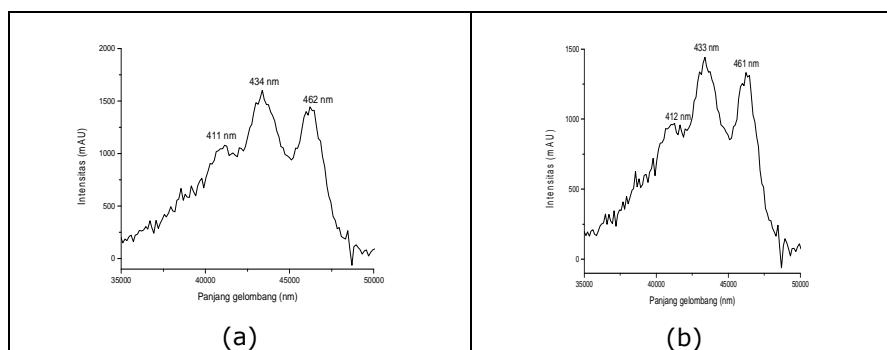
Serapan maksimum hasil KCKT komponen ekstrak pigmen bakteri simbion CJ.K disajikan pada Tabel 2. Sedangkan serapan maksimum hasil KCKT komponen ekstrak pigmen bakteri simbion CJ.OR disajikan pada Tabel 3.



Gambar 3. Pola Spektra Spektroskopi UV-Vis Ekstrak Pigmen Bakteri Simbion CJ.K (a) dengan Serapan Maksimum 411, 437, 464 nm, dan CJ.OR (b) dengan Serapan Maksimum 421, 441, 469 nm Mengindikasikan Golongan Pigmen Karotenoid.



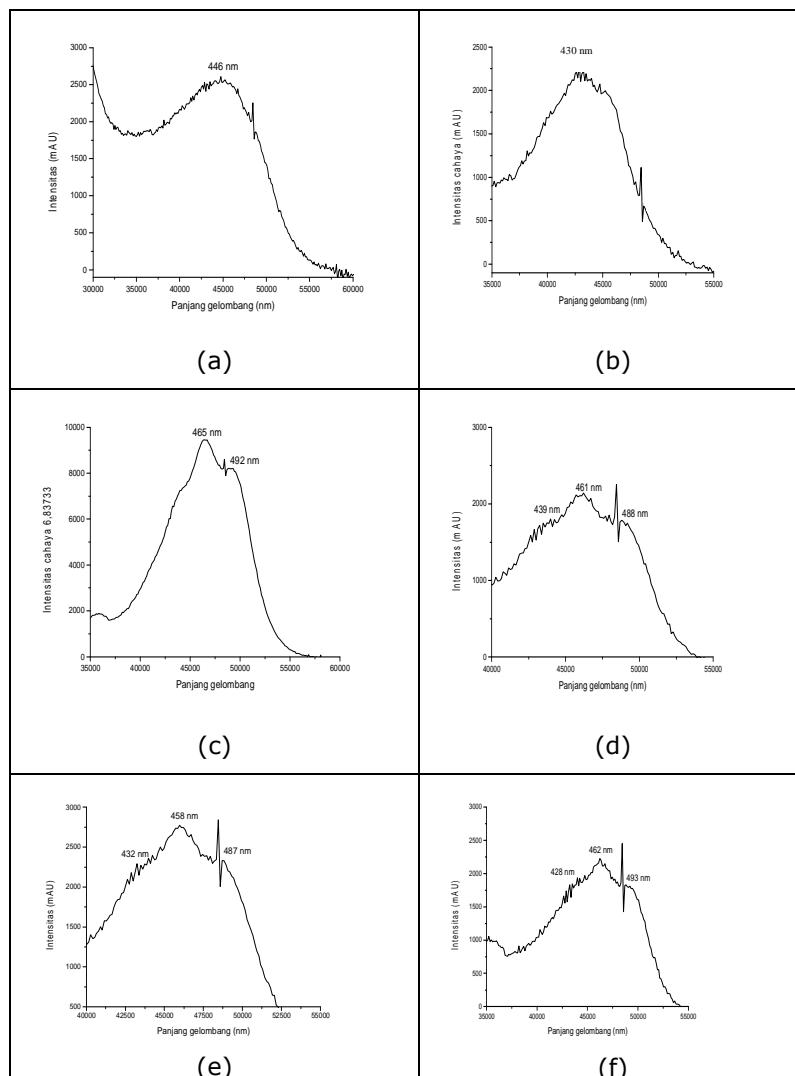
Gambar 4. Profil Kromatogram Ekstrak Pigmen Bakteri Simbion Menghasilkan 2 Peak Dominan pada CJ.K (a), Menghasilkan 6 Peak Dominan pada CJ.OR (b).



Gambar 5. Pola Spektrum Ekstrak Pigmen Bakteri Simbion CJ.K dengan waktu retensi 15,58 menit (a) dan CJ.OR dengan waktu retensi 15,957 menit (b).

Tabel 2. Serapan Maksimum Hasil KCKT Komponen Ekstrak Pigmen Bakteri Simbion CJ.K

No. Peak	Waktu retensi (menit)	Komponen	Absorbansi maksimum (nm)	
			Hasil	Chen et al., (2004)
1	15,58	Violaxanthin	411, 434, 462	411, 435, 465
2	15,957	Neoxanthin	412, 433, 461	412, 435, 465



Gambar 6. Pola Spektrum Ekstrak Pigmen Bakteri Simbion CJ.OR pada Waktu Retensi 4,228 menit (a), 5,543 menit (b), 6,834 menit (c), 7,437 menit (d), 7,927 menit (e), dan 10,666 menit (f).

Tabel 3. Serapan Maksimum Hasil KCKT Komponen Ekstrak Pigmen Bakteri Simbion CJ.OR

No. Peak	Waktu retensi (menit)	Komponen	Absorbansi maksimum (nm)	
			Hasil	Referensi
1	4,228	Xantofil	446	446*
2	5,543	Xantofil	430	446*
3	6,834	Diadinoxanthin	465, 492	460, 480**
4	7,437	γ -karoten	439, 461, 488	438, 464, 496***
5	7,927	β -karoten	432, 458, 487	429, 452, 481***
6	10,666	β -karoten	428, 462, 493	429, 452, 481***

* berdasarkan Jeffrey (1997)

** berdasarkan Nugraheni *et al.* (2010)

*** berdasarkan An Gil *et al* (1989)

Bakteri CJ.OR menghasilkan 6 peak dengan pola spektra pada peak 1 dengan waktu retensi 4,228 menit memiliki serapan maksimum 446 nm dan pada peak 2 dengan waktu retensi 5,543 menit memiliki serapan maksimum 430 nm menyerupai golongan Xantofil. Peak 3 dengan waktu retensi 6,834 menit memiliki serapan maksimum 465, 492 nm menyerupai Diadinoxanthin. Peak 4 dengan waktu retensi 7,437 menit memiliki serapan maksimum 439, 461, 488 nm menyerupai γ -karoten. Sedangkan pada peak 5 dengan waktu retensi 7,927 menit memiliki serapan maksimum 432, 458, 487 nm dan pada peak 6 dengan waktu retensi 10,666 menit memiliki serapan maksimum 428, 462, 493 nm menyerupai β -karoten.

Hasil analisis yang dilakukan pada bakteri CJ.K dan bakteri CJ.OR menghasilkan 2 golongan pigmen karotenoid yaitu golongan Xantofil (Violaxanthin, Neoxanthin, dan Diadinoxanthin) dan golongan karoten (γ -karoten dan β -karoten). Prosentase pigmen yang terkandung pada bakteri CJ.K dan CJ.OR disajikan pada Tabel 4. dan Tabel 5.

Tabel 4. Komposisi Pigmen Karotenoid Bakteri Simbion CJ.K

No. Peak	Waktu retensi (menit)	Jenis Pigmen	Luas Area Rata-Rata (%) kandungan
1	15,58	Violaxanthin	60,1269
2	15,957	Neoxanthin	39,8731

Tabel 5. Komposisi Pigmen Karotenoid Bakteri Simbion CJ.K

No. Peak	Waktu retensi (menit)	Jenis Pigmen	Luas Area Rata-Rata (%) kandungan
1	4,228	Golongan Xantofil	15,10773333
2	5,543	Golongan Xantofil	12,18443333
3	6,834	Diadinoxanthin	28,40663333
4	7,437	γ -karoten	14,62353333
5	7,927	β -karoten	15,93833333
6	10,666	β -karoten	13,73933333

Nugraheni, dkk (2010) juga menyebutkan bahwa lamun jenis *Thalassia hemprichii* juga menghasilkan pigmen karotenoid jenis Diadinoxanin dengan panjang serapan gelombang maksimum 460 nm dengan bakteri penghasilnya *Bacillus licheniformis*.

Pigmen karotenoid golongan karoten yang ditemukan dalam penelitian ini yaitu γ -karoten yang hanya terdiri dari rantai karbon dan hidrogen, dan tidak memiliki ikatan oksigen seperti yang ada pada golongan Xantofil yang mempunyai peranan yang besar dalam bidang kesehatan seperti proitamin A, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, antioksidan, serta penurun resiko kanker (Yan et al., 1999). Selain itu terdapat β -karoten yang memiliki struktur kimia $C_{40}H_{56}$ dan massa molekul 536,87 g/mol yang merupakan turunan hidrokarbon dari beberapa unit isoprene dan paling banyak ditemukan dibandingkan dengan jenis pigmen

karoten yang lain. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Hegazi et al. (1998) pada *C. polifera* menunjukkan bahwa spesies tersebut mengandung pigmen sponoxantin (pigmen utama), sponinein, neoxantin, violaxantin, mikroxantin, mikronon, lutein, α -karoten, dan β -karoten. Hal itu menguatkan dengan pendapat Burton (2003); Atmadja, dkk (2009) dan Fretes et al. (2012), bahwa alga hijau seperti *Caulerpa* sp. karotenoid yang utama berupa α -karoten, β -karoten, lutein, violaxantin, anteraxantin, zeaxantin, dan neoxantin. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Khoeri (2011) menyebutkan bahwa *C. racemosa* berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan.

Identifikasi bakteri simbion

Hasil identifikasi bakteri simbion *C. cupressoides* baik CJ.K maupun CJ.OR disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Biokimia Identifikasi Bakteri

Uji biokimia	CJ.K	CJ.OR
Bentuk	Batang pendek	Coccus
Gram	+	-
Spora	-	-
Motility	-	-
H ₂ S	-	-
An aerobic	-	-
Aerobik	+	+
Aerogenik	-	+
Acid from OF medium		
- Glucose	-	-
Acid from phenol red:		
- Laktose	x	+
- Manitol	x	+
- Arabinose	x	+
- Sukrose	x	-
- Fruktose	x	+
Indol	-	-
Katalase	+	+
Oksidase	-	+
Gelatin	-	-
NO ₃	x	+
Pigmen	+	+

Keterangan : (+) hasil positif, (-) hasil negatif, (x) tidak diujikan

Hasil identifikasi : *Brevibacterium maris* (CJ.K), *Paracoccus alcaliphilus* (CJ.OR)



Bakteri CJ.K yang merupakan *Brevibacterium maris* ini mempunyai bentuk batang pendek, dan tergolong bakteri gram positif, tidak memiliki spora, dan tidak bersifat motil, tidak mampu membentuk H₂S, serta bersifat aerobik, tidak mengandung glukosa, menghasilkan enzim katalase dan menghasilkan pigmen karotenoid. Bakteri *B. maris* merupakan bakteri yang hidup di tanah, air tawar maupun air asin, dan sampah serta toleran terhadap NaCl maksimal 2,5%.

Pada alga hijau, *Brevibacterium KY-4313* yang diteliti oleh Nelis and De Leenheer (1991) mengandung pigmen karotenoid carthaxantin dan astaxantin dimana *Brevibacterium* sp. termasuk dalam jenis bakteri non fotosintetik. β-karoten dan lutein ini sering ditemukan baik pada tumbuhan hijau tingkat tinggi, alga hijau, maupun bakteri non fotosintetik seperti *Brevibacterium* sp.

Bakteri CJ.OR yang merupakan *Paracoccus alcaliphilus*, mempunyai bentuk coccus, termasuk bakteri gram negatif, tidak memiliki spora, tidak bersifat motilf, tidak mampu membentuk H₂S, bersifat aerobic dan aerogenik, tidak mengandung glukosa, mengandung laktosa, mengandung mannitol, mengandung arabinose, tidak mengandung sukrosa, mengandung fruktosa, menghasilkan enzim katalase dan enzim oksidase, tidak mengandung gelatin, mengandung NO₃, dan menghasilkan pigmen karotenoid.

Beberapa jenis *Paracoccus* yang telah diteliti sebelumnya juga dilaporkan mengandung karotenoid jenis tertentu (Lee *et.al.*, 2001). Lee and Young (2006) kemudian melanjutkan penelitiannya yaitu pada bakteri laut *Paracoccus haeundaensis* yang diisolasi dari Laut Haeundae di Korea dari penelitian sebelumnya, ternyata mengandung pigmen karotenoid seperti astaxantin yang mendominasi dan beberapa jenis karoten lainnya yang mana kerotenoid ini adalah pigmen alami penting dihasilkan oleh banyak jasad renik dan tumbuhan.

Seperti juga penelitian yang dilakukan oleh *Paracoccus* ternyata mampu memproduksi secara aktif ketokarotenoid seperti adonixantin, astaxantin, likopen, karoten, kriptoxantin, kantaxantin, cis-adonixantin, dan zeaxantin yang mana kedua jenis karoten ini disimpan dalam bentuk partikel halus sel-sel bakteri mereka yang mana hal ini menjadikan jenis bakteri ini mudah untuk diekstraksi (Kurnia, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh

Chen *et.al.*, (2004) menyebutkan bahwa bakteri laut *Paracoccus* sp. yang diteliti olehnya mengandung β-karoten dan astaxanthin yang sebelumnya telah diidentifikasi dengan cara spektroskopis dan kromatografis.

Kesimpulan

Bakteri simbion rumput laut *C. cupressoides* *B. maris* mengandung pigmen Violaxanthin dan Neoxanthin. Sedangkan bakteri *P. alcaliphilus* mengandung pigmen golongan Xantofil, Diadinoxantin, γ-karoten, dan β-karoten. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri rumput laut *C. cupressoides* mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai sumber pigmen alami yang berasal dari laut dan berkelanjutan.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang membantu dalam menyelesaikan jurnal ilmiah ini.

Daftar pustaka

- An , Gil-Hwan., Donald, B. S., Eric, A. J. 1989. Isolation of *Phaffia rhodozyma* Mutans with Increased Astaxanthin Content. *Appl. Environ Microbiol.* 55 (1): 116-124.
- Atmadja, W.S., A. Kadi, Sulistijo, R. Satari. 2009. Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia. Puslitbang Oseanografi, LIPI. Jakarta. 191 hlm.
- Bauernfeind, J.C. 1981. Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors. Academic Press. New York.
- Bergey's. 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Ed (2). The Proteobacteria, Part C the Alpha, Beta, Delta, and Epsilonproteobacteria. Cambridge University Press. London.
- Britton, G. and Goodwin, T.W. 1982. Carotenoid Chemistry and Biochemistry, Proc.6th IUPAC Int. Symp. on Carotenoids. Pergamon Press. Oxford.
- Burton, P. 2003. Nutritional Value of Seaweeds. *J. Environ. Agric. Food. Chem.* 2(4): 498-503.
- Chen, J. P., C. Y. Tai and B. H. Chen. 2004. Improved Liquid Chromatographic Method



-
- for Determination of Carotenoid in Taiwanese Mango (*Mangifera indica L.*). *J. Chrom. A.* 1054: 261-268.
- Cowan, S. T. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2nd Edition. Cambridge University Press. London. 238.
- Fitton, Helen. 2005. Marine Algae and Health: a Review of the Scientific and Historical Literature.
- Fretes, de H, A.B Susanto, Budhi P., Heriyanto, Tatas H.P., Brotosudarmo dan L. Limantara. 2012. Estimasi Produk Degradasi Ekstrak Kasar Pigmen Alga Merah *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty Varian Merah, Coklat, dan Hijau: Telaah Perbedaan Spektrum Serapan. *J. Ilmu Kelautan.* 17 (1): 31-38.
- Gross, J. 1991. Pigments in Vegetables. Chlorophylls and Carotenoids. An Avi Book. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Hegazi, M.M.I., Ruzafa, A.P., Almela, L., & Candela, M.E. 1998. Separation and Identification of Chlorophylls and Carotenoids from *Caulerpa prolifera*, *Jania rubens* and *Padina pavonica* by Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *J.Chrom.* 829: 153-159.
- Jeffrey, S.W. 1997. Chlorophyll and Carotenoid Extinction Coefficients in Jeffrey, S.W, Mauntaia, R.F.C And Wright, S.W. (Eds). Phytoplankton Pigments in Oceanography, Guidelines to Modern Methods. Unesco Publishing. Paris. 458 – 459.
- Krinsky, N.I and Jhonson E.J. 2005. Carotenoid Actions and their Relation to Health and Disease. *J. Mol. Aspects. Med.* 26(6): 459-516.
- Kurnia, A. 2007. Lebih Jauh tentang Bahan Pewarna Ikan dalam www.beritaiptek.com. diakses pada hari Minggu, 3 maret 2013 pukul 20.00 WIB.
- Latowski ,Darius., R. Goss, M. Bojko and K. Strzaka. 2012. Regular Paper Violaxanthin and Diadinoxanthin De-Epoxidation in Various Model Lipid Systems. *Act. Biochim. Pol.* 59(1): 101-103.
- Lee, J. H., Y. T. Kim. 2006. Cloning and Characterization of the Astaxanthin Biosynthesis Gene Cluster from the Marine Bacterium *Paracoccus haeundaensi*. *Sec. Evolut. Gen.* 370: 86-95.
- Lee, Y.K., Lee, J. H. and Lee,, H. K. 2001. Microbial Symbiosis in Marine Sponges. *J. Microbiol.* 39 (4): 254-264.
- Maeda, H., Masashi, H., Tokute, S., Katsura, F., Kazuo, M. 2005. Fucoxanthin from Edible Seaweed *Undaria pinnatifida* Shows Antioesity Effect Through UCPI Expression in White Adipose Tissues. *Biochem. Biophys Res. Comm.* 323: 392-397.
- Nugraheni, S. A., M.M. Khoeri., L. Kusmita, Y. Widayastuti and O.K. Radjasa. 2010. Characterization of Carotenoid Pigments from Bacterial Symbionts of Seagrass *Thalassia hemprichii*. *J. Coast Dev.* 14(1): 51-60.
- Radjasa, O.K., S.I.O. Salasia, A. Sabdono, J. Weise, J.F. Imhoff, C. Lammler and M.J. Risk. 2007b. Antibacterial Activity of Marine Bacterium *Pseudomonas* sp. Associated with Soft Coral *Sinularia polydactyla* Against *Streptococcus equi* Subsp. *Zoopidemicus*. *Int . Pharmacol.* 3 (2): 170-174.
- Radjasa, O.K., T. Martens., H-P. Grossart., T. Brinkoff., A. Sabdono., and M. Simon. 2007a. Antagonistic Activity of a Marine Bacterium *Pseudoalteromonas luteoviolacea* TAB4.2 Associated with Coral *Acropora* sp. *J. Biol. Sci.* 7(2): 239-246.
- Radjasa, OK., and A. Sabdono. 2003. Screening of Secondary Metabolite Producing Bacteria Associated with Corals Using 16S rDNA Based Approach. *J.Coast. Dev.* 7: 11-19.
- Stafsnes ,M. H., K. D. Josefson., G. K. Andersen., S. Valla, T. E. Ellingsen, and P. Bruheim. 2010. Isolation and



Characterization of Marine Pigmented Bacteria from Norwegian Coastal Waters and Screening for Carotenoids with UVA-Blue Light Absorbing Properties. *J. Microbiol.* 48(1): 16-23.

Stahl, W., and H. Sies. 2003. Antioxidant Activity of Carotenoids Molecular. *J. Aspects. Med.* 24:: 345-351.

Yan X., Chuda Y., Suzuki M., Nagata T. 1999. Fucosantin as the Major Antioksidant in *Hijikia fusimoris*, a Common Edible Saweed. *J. Biotech Biochem.* 63: 605-60.