JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

POTENSI PIGMEN KAROTENOID BAKTERIUM ENDOFIT LAMUN *Thalassia hemprichii* SEBAGAI SUMBER SENYAWA ALAMI PENANGKAL RADIKAL BEBAS DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)

Rr. Citra Permata*), Ita Riniatsih, Ocky Karna Radjasa

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax.024-7474698

email: Journalmarineresearch@gmail.com

ABSTRAK

Karotenoid merupakan salah satu jenis pigmen yang penting bagi kesehatan manusia yang berfungsi sebagai antioksidan. Karotenoid merupakan pigmen kuning, orange sampai merah yang biasanya ditemukan dalam sayuran, buah-buahan serta bakteri dan fungi. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antioksidan dari pigmen karotenoid bakteri endofit lamun *Thalassia hemprichii* serta mengidentifikasi bakteri tersebut secara molekuler. Analisis pigmen dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV

1601, uji antioksidan dengan metode DPPH dan identifikasi bakteri dilakukan dengan PCR 16S rDNA. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2013 – April 2014. Sampel lamun didapatkan dari perairan Teluk Awur Jepara. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakterium Th1 mempunyai pigmen kuning dengan tiga puncak panjang gelombang yaitu 460 nm, 439.5 nm, 417 nm sesuai dengan serapan panjang gelombang pigmen karotenoid yaitu 300-600 nm. Identifikasi bakteri secara molekuler 16S rDNA menunjukkan bahwa isolat Th1 mempunyai homologi 97% dengan *Erythrobacter vulgaris*. Aktivitas penghambatan pigmen bakteri Th1 yaitu 18,97%.. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pigmen karotenoid bakterium Th1 mempunyai potensi sebagai senyawa alami penangkal radikal bebas DPPH.

Kata Kunci**:** *Thalassia hemprichii,* Bakteri endofit, Karotenoid, Uji DPPH, PCR 16S rDNA

ABSTRACT

Carotenoid is one of the most important pigments that has an important role for human health. Carotenoid are yellow, orange and red pigments that usually found in vegetables, fruits, bacteria and fungi. The purpose of this research were to determine antioxidant activity from carotenoid pigment endofit bacterium of seagrass *Thalassia hemprichii* and to identify bacteria with 16S rDNA basic approach. Pigment analysis was performed by spektrofotometer UV 1601, antioxidant test was with DPPH method and bacterial identification was with 16S rDNA. This research was conducted in October 2013 until April 2014. Sample seagrass *Thalassia hemprichii* was collected from Teluk Awur waters, Jepara. This result showed that isolate Th1 has yellow pigment with three pick is 460nm, 439,5nm and 417nm appropriate with wave length of carotenoid of 300-600nm. Identification with 16S rDNA showed that Th1 has 97% homology with *Erythrobacter vulgaris*. Antioxidant activity from Th1 was 18,97%. From this research it can conclused that bacterium TH1 has potential as prevent free radical DPPH

Keywords : *Thalassia hemprichii*, Endophyt Bacterium, Carotenoid, DPPH test, PCR 16S rDNA

*) Penulis penanggung jawab

JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

Pendahuluan

Laut merupakan sumber pigmen alami yang berpotensi sebagai penyedia pigmen baru salah satunya berasal dari bakteri (Krinsky, 2005). Karotenoid yang dijumpai pada bakteri berfungsi sebagai fotoproteksi atau pelindung bakteri dari kondisi perubahan alam yang terjadi pada habitat, meningkatnya intensitas cahaya matahari dan kenaikan suhu. Keberadaan mikroorganisme yang berasosiasi dengan tumbuhan laut yang juga memiliki aktivitas mensintesa metabolit sekunder seperti organisme inangnya merupakan potensi besar sumber eksplorasi senyawa baru (Proksch *et al.*, 2002; Burgess *et al*., 2003).

Thalassia hemprichii memiliki jumlah berlimpah dan dominan pada padang lamun campuran serta mampu tumbuh dan berkembang dalam kondisi tak beroksigen *(anoxia)* atau berkadar oksigen rendah yang merupakan sifat habitat pasang surut yang dangkal.

Bakteri simbion lamun merupakan sebutan koloni bakteri yang tumbuh dan berkembang serta berasosiasi dengan tanaman lamun.Salah satu potensi bakteri tersebut adalah menghasilkan pigmen alami, sehingga organisme tersebut dapat dijadikan sebagai sumber pigmen alami (Krinsky, 2005).

Bakteri endofit yang diisolasi dari suatu tanaman dapat menghasilkan metabolit sekunder sama dengan tanaman aslinya atau bahkan dalam jumlah yang lebih tinggi, maka kita tidak perlu mengambil tanaman aslinya yang kemungkinan besar memerlukan waktu lama untuk dapat dipanen (Strobel and Daisy, 2003). Menurut Strobel dan Daisy (2003) menjelaskan bahwa bakteri endofit yang tumbuh dalam berbagai macam tumbuhan ini memiliki fungsi yang berbagai macam yaitu sebagai sumber senyawa antibiotik, antivirus, antijamur, antimalaria, antikanker, antidiabetes dan antioksidan.

Radikal bebas adalah sekelompok zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, untuk mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit degeneratif lainnya. Diperlukan adanya penangkal radikal bebas salah satunya berasal dari pigmen karotenoid bakteri.

Mikroorganisme punya kandungan pigmen alami yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami, namun penelitian belum banyak dilakukan khususnya bakteri simbion lamun. Informasi ini sangat diperlukan karena diharapkan bahwa bakteri simbion lamun dapat memberikan kontribusi sebagai alternatif baru untuk sumber antioksidan alami dari laut yang dapat digunakan sebagai penangkal radikal bebas.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jenis pigmen karotenoid dari bakteri endofit *Thalassia hemprichii,* menguji aktivitas penghambatan ekstrak kasar pigmen bakteri endofit *T. hemprichii* terhadap radikal bebas DPPH dan mengindentifikasi secara molekuler bakteri endofit tersebut.

Materi dan Metode

Penelitian ini dilakukan dari bulan November 2013 sampai April 2014. Pengambilan sampel dilakukan di Perairan Teluk Awur Jepara. Isolasi bakteri hingga uji DPPH dilakukan di Laboratorium Terpadu UNDIP, Semarang. Spektrofotometri pigmen karotenoid dilakukan di BPIK, Semarang sedangkan

JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

identifikasi bakteri dengan molekuler dilakukan di Laboratorium Terpadu UNDIP selanjutnya sekuensing dilakukan di Genetika Science, Jakarta.

a. Pengambilan sampel dan isolasi bakteri

Sampling penelitian dilakasanakan di perairan Teluk Awur Jepara. Pengambilan sampel lamun *Thalassia hemprichii* menggunakan *cutter* pada kedalaman 50cm - 1m. Sampel yang diambil sebanyak satu tegakan kemudian dimasukkan ke dalam cool box untuk penyimpanan sementara.

Daun lamun digelontor dengan air laut steril untuk membersihkan sedimen dan hewan kecil yang menempel kemudian disemprot dengan alkohol 70% untuk menghilangkan bakteri epifit yang tidak diinginkan selanjutnya daun ini dibelah secara membujur sehingga bagian dalam daun dapat terlihat, kemudian bagian daun bagian dalam diusap ke media dan diletakkan pada petri yang berisi media agar dengan menghadap kearah agar (Marhaeni *et al.*, 2010).

Selanjutnya cawan petri dibungkus dengan menggunakan plastik clingwrap supaya tidak terjadi kontaminasi, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 4 x 24 jam sampai isolat bakteri muncul. Purifikasi dilakukan berdasarkan indikasi warna pigmen karotenoid yaitu kuning, orange dan merah sehingga didapatkan isolat bakteri Th1 berwarna kuning.

b. Ekstraksi dan identifikasi pigmen bakteri

Isolat bakteri Th1 dikultur dengan media cair Zobell 2216E secara bertingkat dimulai dari 30 ml, 100 ml, 300 ml, 600 ml dan 900 ml. Sebanyak 900 ml kultur media cair dibagi dalam delapan buah tabung sentrifuge dengan volume yang sama (50ml) dan disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit lalu didapatkan natan bakteri sebanyak 2,56 gram.

Sebanyak 2,5 gram natan diekstraksi dengan menggunakan pelarut aseton : metanol dengan perbandingan (3:7 v/v) sebanyak 10 ml (Khoeri, 2011). Ekstrak kemudian dikeringkan dengan gas N_2 untuk memisahkan antara pelarut dengan pigmen dari bakteri tersebut sehingga didapatkan 0,02 gram ekstrak kasar pigmen.

Pigmen hasil ekstraksi dengan aseton kemudian dianalis menggunakan spektrofotometer UV-Vis 1601 pada panjang gelombang 300-600 nm. Pola spektra diamati pada puncak gelombang yang terbentuk kemudian dibandingkan dengan referensi(Khoeri, 2011).

c. Uji DPPH

Larutan uji terdiri dari 1 mL sampel ditambah 4 mL larutan DPPH (0,1 mM DPPH dalam metanol 95%), sedangkan kontrol positif merupakan betakaroten 1 mL ditambahkan DPPH 4 mL. Kontrol negatif berupa 1 mL aseton ditambah 4 mL DPPH. Pembuatan larutan kontak dan kontrol positif dijelaskan pada Lampiran 3. Kontrol negatif, kontrol positif maupun sampel diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang 515 nm sesuai hasil absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis 1601. Aktivitas penghambatan diukur dengan rumus :

% penghambatan = $\frac{[DPPH]0-[DPPH]S}{[DPPH]0} X100\%$

$[DPPH]_0$ = absorbansi kontrol negatif

$[DPPH]_S$ = absorbansi larutan uji

d. Analisis molekuler isolat bakteri

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode Chelex (Walsh *et al.*, 2013). Sel bakteri ditambah 50µl aquabides dan 1 ml saponin 0,5% dalam PBS kemudian diamkan satu malam pada suhu 4°C kemudian *sentrifuge* dengan kecepatan

JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

12.000 rpm selama 10 menit, buang supernatant. Setelah itu tambahkan 1 ml PBS dan *sentrifuge* kembali lalu buang supernatant untuk mencuci saponin. Kemudian tambahkan 100 µl aquabides dan 50 µl chelex 20%. Lalu direbus selama 10 menit dan divortex selama 5 menit. Setelah itu di*sentrifuge* dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Hasil ekstraksi disimpan dalam *freezer* selama 24 jam kemudian kuantitas DNA dilihat dengan alat nanodrop.

16S rDNA merupakan metode standar untuk mempelajari filogenetik dan keanekaragaman mikroorganisme laut (Radjasa dan Sabdono, 2003).

Primer yang digunakan untuk PCR 16S rDNA adalah primer universal 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan primer spesifik eubacteria 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3').

Perlakuan temperatur yang digunakan pada PCR ini adalah: denaturasi yaitu memanaskan DNA supaya untai ganda DNA terpisah pada suhu 95^{o}C selama 3 menit, kemudian 30 siklus *anneling* pada 55^{o}C selama 1 menit, *extension* pada 72^{o}C selama 1 menit dan denaturasi kembali pada 95 ^{o}C selama 1 menit, 72 ^{o}C selama 7 menit (Lee, 2006). Volume reaksi yang digunakan dalam amplifikasi yaitu 50µl

Visualisasi produk PCR 16S rDNA ini dilakukan melalui elektroforesis dengan cara memasukkan 5 µl produk PCR ke dalam sumur gel agarose 0,8 % yang telah direndam larutan buffer TAE 1 X. Produk PCR dimasukkan dalam sumuran gel dengan mencantumkan Loading dye dan Ladder pada sumur pertama sebagai penanda kemudian dielektroforesis dengan voltase sebesar 100 V selama 30 menit.

Hasil elektroforesis dilihat dengan alat Geldox Uvitec. Formula untuk reaksi PCR sekuensing yaitu: 2 µl big dye 2 µl buffer 10x, 4 µl template DNA, 1 µl primer dengan konsentrasi 3,2 pmol, ddH_2O hingga volume akhir 10 µl. Analisis sekuen DNA isolat bakteri kemudian dibandingkan dengan sekuen DNA pada basis data (*database*) DNA. Penelusuran dilakukan dengan menggunakan internet melalui program pelacakan database *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST)

Hasil dan pembahasan

a. Isolasi dan purifikasi bakteri

Hasil isolasi bakteri endofit lamun *T. hemprichii* dari perairan Teluk Awur, Jepara dengan menggunakan media Zobell 2216E didapatkan 10 isolat bakteri yang disajikan dalam Tabel 1.

Kode	Bentuk	Warna	Tekstur
Th1	Bulat	Kuning	Cembung
Th2	Tidak beraturan	Putih	Cekung
Th3	Tidak beraturan	Abu-abu	Cembung
Th4	Tidak beraturan	Putih	Cembung
Th5	Bulat	Putih transparan	Cembung
Th6	Bulat	Putih pekat	Cembung
Th7	Tidak beraturan	Hijau	Cembung
Th8	Tidak beraturan	Coklat	Cembung
Th9	Bulat	Ungu	Cekung
Th10	Bulat	Putih	Cembung

JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

Tabel 1. Karakteristik Bakteri Endofit *T. hemprichii*

Isolat bakteri yang dipilih merupakan bakteri dengan indikasi warna pigmen karotenoid (merah, kuning, orange) yaitu Th 1. Hasil purifikasi didapatkan isolat bakteri Th1 dengan warna kuning bentuk bulat dan tekstur cembung. Isolat bakteri tersebut dikultur bertingkat dengan media cair Zobell 2216E hingga volume 900ml.

b. Ekstraksi dan identifikasi pigmen bakteri

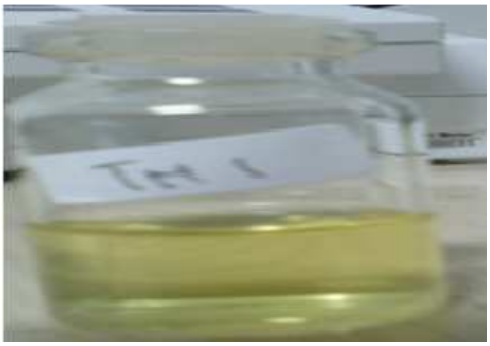
Identifikasi pigmen dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis 1601 dengan panjang gelombang 300 – 600 nm sesuai dengan kisaran panjang gelombang pigmen karotenoid (Gross, 1991). Ekstraksi merupakan salah satu cara pemisahan suatu zat dari sumber zat tersebut. Ekstraksi dilakukan karena metabolit sekunder bakteri didifusikan ke media (Roeswitawati dan Ishartati, 2007).

Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam pelet bakteri dengan pelarut. Senyawa polar akan larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar. Karotenoid merupakan pigmen non polar sehingga harus diekstrak dengan pelarut organik seperti aseton, metanol dan etanol

(Sejati *et al*, 2012) ataupun metanol : aseton (Limantara dan Heriyanto, 2012).

Sebanyak 2.56 gram pelet bakteri diekstraksi menggunakan pelarut aseton : metanol 3:7 (v:v). Pemilihan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lainnya. Pelarut ini mampu memecah ikatan antara pigmen dengan protein serta mengekstrak pigmen dari jaringan secara kuantitatif. Karotenoid pada bakteri biasanya ditemukan pada dinding sel bakteri (Britton *et al*, 1995). Ekstraksi dilakukan pada tabung vial yang dibungkus dengan alumunium foil untuk mencegah adanya degradasi oleh cahaya. Isolat Th1 berhasil diekstraksi ditandai dengan terangkatnya pigmen dari natan bakteri.

Sebanyak 10 ml pigmen diuapkan dengan gas N2 untuk menghilangkan pelarut sehingga didapatkan ekstrak kasar pigmen sebanyak 0,02 gram. Pigmen bakteri dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis 1601 menggunakan pelarut aseton (Gross, 1991). Pelarut ini dipilih karena banyak digunakan dalam identifikasi pigmen karotenoid dengan menggunakan alat spektrofotometer. Pigmen Th1 terlihat pada gambar 1

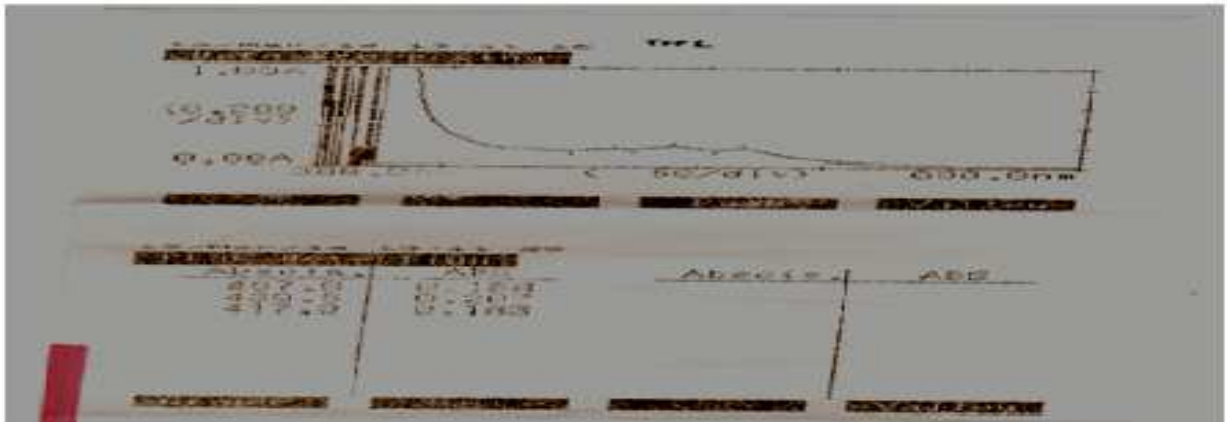


Gambar 1. Pigmen bakteri Th1

Identifikasi pigmen diukur dengan serapan panjang gelombang 300 - 600 nm. Pigmen Th 1 mempunyai tiga titik puncak yaitu 460 nm, 439.5 nm, 417 nm.

JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

Menurut (Jeffrey et al., 1997) pigmen tersebut merupakan pigmen dinoxanthin yang memiliki puncak absorbansi pada 417,9 nm, 441,5 nm dan 470,7 nm. Pigmen dinoxanthin memiliki warna kuning terang dan biasanya ditemukan pada dinoflagelata serta endosimbion alga. Dinoxanthin memiliki rumus molekul $C_{42}H_{58}0_5$. Pigmen bakteri tersebut berada pada kisaran serapan panjang gelombang karotenoid yaitu 300-600nm. Pola spektra Th1 terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Pola spektra Th1

c. Identfifkasi bakteri secara molekuler

Ekstraksi DNA dilakukan dengan metode chelex 100 dengan pertimbangan metode ini cepat, mudah serta tidak membutuhkan banyak perlakuan. Setelah ekstraksi dilakukan selanjutnya kuantitas DNA dilihat dengan alat nano spektrofotometer yang disebut nanodrop.

DNA murni dapat menyerap cahaya ultraviolet karena adanya basa purin dan pirimidin. Pita ganda DNA dapat menyerap cahaya UV pada 260nm, sedangkan kontaminan protein atau fenol akan menyerap cahaya pada 280nm. Sedangkan kemurnian DNA dapat diukur dengan membagi nilai absorbansi 260 dengan nilai absorbansi 280 dan nilai kemurnian berkisar antara 1,8 – 2,0 (Fatchiyah *et al.*, 2011). Bakteri Th 1 mempunyai P 260/280 55,4 dan nilai kemurnian 1,9.

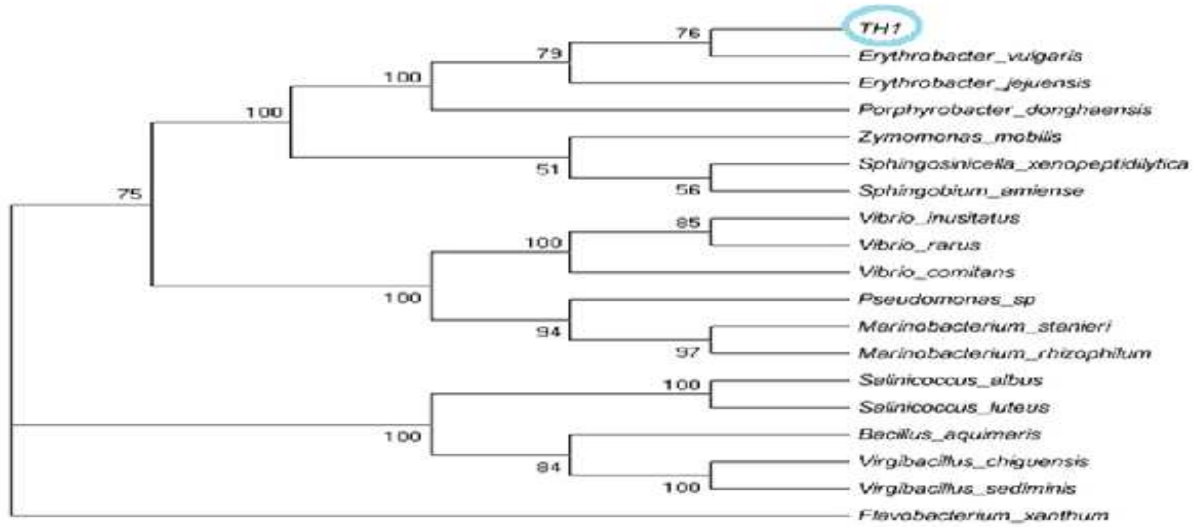
Amplifikasi DNA dengan menggunakan PCR 16 S rDNA menurut metode Lee (2006) menunjukan hasil positif ditandai dengan terdapatnya berkas DNA bakteri isolat Th1 panjang basa yang sesuai yaitu sekitar 1200 bp sesuai dengan marker terlihat pada Gambar 3.

JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

Gambar 3. Visualisasi DNA Th1 yang dibandingkan dengan marker

Hasil sekuensing menunjukkan susunan basa 16s rDNA isolat bakteri Th1 sebesar 1302 bp. Penelusuran homologi dengan menggunakan BLAST menunjukkan bahwa isolat Th1 merupakan bakteri *Erythrobacter vulgaris* dengan tingkat homologi 97%.

Sekuen bakteri Th1 sudah didepositkan pada DDJB dengan nomer akses AB935947. Skema hubungan kekerabatan Isolat Th1 terlihat pada gambar 4.



Gambar 4. Skema hubungan kekerabatan Isolat Th1

Berdasarkan hasil identifikasi molekuler PCR 16S rDNA diketahui bahwa isolat bakteri Th1 mempunyai tingkat homologi 97% dengan bakteri *Erythrobacter vulgaris* dengan klasifikasi berikut menurut (Ivanova *et al*., 2006):

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Alphaproteobacteria
Order : Sphingomonadales
Family : Sphingomonadaceae
Genus : Erythrobacter
Species : *Erythrobacter vulgaris*

Erythrobacter merupakan bakteri aerob yang mengandung klorofil a yang disebut anoksigenik fototrop (Denner *et al.,*2002).Erythrobacter juga mengandung banyak karotenoid (Koblizek *et al.,* 2003). Erythrobacter merupakan bakteri gram negatif, tidak membentuk spora dan non motil, mempunyai peran penting dalam siklus organik dan non organik dilaut. Erythrobacter banyak ditemukan pada perairan yang kaya nutrient seperti pantai.

Erythrobacter vulgaris merupakan bakteri laut yang mempunyai pigmen kuning, gram negatif, kemoorganotropik aerobik yang diisolasi dari bintang laut *Stellaster equestris* dan *soft coral* berasal dari perairan china selatan.

Erythrobacter vulgaris dapat mentoleransi terhadap NaCl 3-6%, tumbuh pada suhu 10-40 ^{0}C, memproduksi karotenoid, mempunyai Phosphatidylethanolamine (30-36%), phosphatidyglycerol (39-46%) dan phosphatidylcholine (21-27%) (Ivanova *et al*., 2006).

d. Uji DPPH

JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

Aktivitas penghambatan dihitung berdasarkan rumus menurut Molyneux, (2004) didapatkan hasil % penghambatan β karoten 74,66 %, Th 1 18.93% pada konsentrasi 2000 ppm. Nilai absorbansi terhadap DPPH terlihat pada tabel 1.

No	Keterangan	Absorbansi
1	β karoten (kontrol +)	0,325
2	Th1	1,040
3	Kontrol -	1,283

Tabel 1. Nilai absorbansi terhadap DPPH

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{[DPPH]0-[DPPH]S}{[DPPH]0} X100\%$$

$$\beta \text{ karoten} = \frac{1{,}283-0{,}325}{1{,}283} X\ 100\% = 74\%$$

$$\text{Th 1} = \frac{1{,}283-1{,}040}{1{,}283} X\ 100\% = 18{,}97\%$$

Aktivitas penghambatan radikal bebas bakteri Th1 diuji dengan metode DPPH karena metode ini sederhana, mudah, cepat, peka dan hanya memerlukan sampel yang sedikit. Konsentrasi uji yang dipakai yaitu 2000 ppm untuk sampel dan kontrol positif sedangkan kadar DPPH 0,1mM. Sampel merupakan pigmen bakteri Th 2000 ppm, kontrol negatif berupa aseton dan DPPH sedangkan kontrol positif berupa betakaroten 2000 ppm yang direaksikan dengan DPPH 0,1mM dalam ruang gelap selama 30 menit.

Setelah diinkubasi kemudian dilihat absorbansinya dengan panjang gelombang DPPH yaitu 515 nm. Pigmen Th 1 mempunyai potensi sebagai penangkal radikal bebas DPPH walaupun tidak seefektif betakaroten yang merupakan senyawa antioksidan alami yang sudah beredar dan digunakan pada industri makanan. Hal ini terjadi karena pigmen Th1 belum murni masih tercampur oleh senyawa lain, tidak seperti betakaroten yang merupakan pigmen murni. Tingkat kemurnian pigmen berbanding lurus dengan tingkat efektifitasnya sebagai penangkal radikal bebas.

Karotenoid dapat berfungsi sebagai *quencher* singlet oksigen sehingga karotenoid dapat mengubat singlet oksigen menjadi triplet oksigen. Karotenoid yang tereksitasi tersebut akan melepaskan panas kemudian kembali menjadi karotenoid stabil. Gordon (1990) mengatakan bahwa antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen.

5. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa

1. Hasil isolasi bakteri endofit lamun *T. hemprichii* dari perairan Teluk Awur Jepara didapatkan bakteri pigmen karotenoid berwarna kuning dengan tiga puncak yaitu pada 467, 439.5 dan 417 nm yang diduga merupakan pigmen dinoxanthin.
2. Isolat Th1 memiliki aktivitas penangkal radikal bebas lebih rendah dibandingkan marker betakaroten pada konsentrasi 2000 ppm yaitu Th1 18,97% sedangkan aktivitas penghambatan betakaroten 74%.
3. Berdasarkan hasil identifikasi molekuler diketahui bahwa bakteri Th 1 merupakan bakteri *Erythrobacter vulgaris* dengan homologi 97% dari penelusuran BLAST.

Ucapan terimakasih

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

JOURNAL OF MARINE RESEARCH
Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 294-303
Online di: http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jmr

Daftar pustaka

Britton, G., Liaaen-Jensen, S. dan Pfander, H. 1995. Carotenoids. 1A:Isolation and Analysis. Birkhauser Verlag, Basel, Boston, Berlin.

Burgess, J.G. ; K.G. Boyd; E.Armstrong; Z.jiang; L.Yan; m. Berggren; U. May ; T. Pisacane; A. Granmo and D.R.Adams 2003. The Development of a marinenatural product-based antifouling paint. Biofouling, Suppl., 197 -205.

Denner, D. Vyviral, M. Koblizek, P. Kampfer, H.J. Busse. 2002. Erythrobacter citereus, a novel yellow-pigmented bacterium from the Western Mediterranean Sea. http:www.MicrobeWiki.com (14 Mei 2014).

Fatchiyah, E.L Arumingtyas, S Widyarti, dan S. Rahayu. 2011. Biologi Molekular Prinsip Dasar Analisis, Erlangga, Jakarta.

Gordon, M.H. 1990. The Mechanism of Antioxidant Action Invitro. Food Antioxidants. Elsevier Applied Science, London, Vol 1-15.

Gross, J. 1991. Pigment in Vegetables, Chlorophylls and Carotenoids. Von Non Strand Reindhold, New York

Khoeri, M. M. 2011. Analisis Pigmen Fotosintetik, Potensi Antioksidan dan Kandungan Proksimat Pada *Caulerpa racemosa Var Occidentalis* dan Bakteri Asosiasinya. [Thesis]. Fakultas Biologi, UKSW: Salatiga

Koblizek, M. O. Beja. R.R Bidigare, S. Christensen. B.B Nelson, C.Vetriani, M.K. Kolber. P. G. Falkowski. Z.S. Kolber. Isolation and Characterization of Erythrobacter sp. strain from the upper ocean. 2003. http:www.MicrobeWiki.com (14 Mei 2014).

Krinsky, N.I and Jhonson E.J. 2005. Carotenoid Action and Their Relation to Health and Disease. J.Mol. Aspects.Med., 26(6):459-516.

Lee, Y.K, H.J Jung and H.K. Lee, 2006. Marine Bacteria Asociated with the Korean Brown Alga, Undaria pinnatifida. J. Microbiol., 44(6):694-698.

Limantara, L dan Heriyanto. 2011. Optimasi Proses Ekstraksi Fukosantin Rumput Laut Padina australis Hauck Menggunakan Pelarut Organik Polar. Jurnal Ilmu Kelautan., 16(2):86-94.

Marhaeni, B. O.K. Radjasa, D. G Bengen and R.F Kaswadji. 2009 Screening Of Bacterial Symbionts Of Seagrass *Enhalus sp.* Againts Biofilm-Forming Bacteria. J Coast Development., 13:126-132.

McCarthy TC. 2001. Veterinary Endoscopy for the Small Animal Practitioner. Missouri, Elsevier Saunder.

Molyneux P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioksidan activity. J. Sci. Technol., 26(2):211- 219.

Proksch P, R.A. Edrada, R. Ebel, 2002. Drugs Frome the seas-current status and microbiological implications. Appl Microbiol Biotech., 59:125-134

Radjasa, O.K and A. Sabdono. 2003. Screening Of Secondary Metabolite Producing Bacteria Associated With Corals Using 16S rDNA-Based Approach. J. Coast Dev., Vol 7(1):11-19.

Sedjati, Sri. Yudiati. E. Suryono. 2012. Profil Pigmen Polar dan Non Polar Mikroalga Laut *Spirullina* sp dan Potensinya sebagai Pewarna Alami.

Strobel GA., and B. Daisy. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. Microbial. Mol. Biol., Rev 67(4): 491-502.

Walsh,P.S. David, A.M, and Rusell. H. 2013. Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR Based Typing from Forensic Material. Biotech, 54:3.