



IDENTIFIKASI PIGMEN KAROTENOID PADA BAKTERI SIMBION RUMPUT LAUT *Kappaphycus alvarezii*

Fera Nur Idawati Sahara^{*)}, Ocky Karna Radjasa, Endang Supriyanti

*Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Universitas Diponegoro, Jl. Prof. H. Sudarto, SH Semarang 50275 Indonesia*

Email: agnia_fenusa@yahoo.co.id

Abstrak

Karotenoid merupakan salah satu jenis pigmen yang penting bagi kesehatan manusia. Karotenoid dipercaya dapat meningkatkan respon imunitas, anti kanker, antioksidan, provitamin A dan juga sebagai terapi penyakit yang sensitif terhadap cahaya. Karotenoid merupakan pigmen kuning, orange sampai merah dan biasanya ditemukan dalam sayuran, buah-buahan dan dapat pula ditemukan pada hewan, manusia, fungi dan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pigmen karotenoid dari bakteri simbion rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan mengidentifikasi bakteri simbion yang menghasilkan pigmen karotenoid tersebut. Analisis pigmen dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan uji morfologi dan biokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 12 bakteri simbion yang berhasil diisolasi terdapat 2 bakteri yang positif mengandung pigmen karotenoid yaitu ECJ K dan ECJ OR. Bakteri ECJ K mengandung pigmen Violaxanthin dan α -karoten. Sedangkan untuk bakteri ECJ OR mengandung pigmen Diadinoxanthin, Neoxanthin, γ -karoten, β -karoten dan α -karoten. Hasil identifikasi bakteri dengan uji biokimia menunjukkan bahwa bakteri ECJ K merupakan *Brevibacterium maris* dan bakteri ECJ OR merupakan *Micrococcus varians*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari bakteri simbion rumput laut *Kappaphycus alvarezii* mengandung berbagai jenis pigmen yang tergolong dalam pigmen karotenoid.

Kata-kata Kunci : Bakteri simbion; *Kappaphycus alvarezii*; Karotenoid; KCKT; Uji Biokimia

ABSTRACT

Carotenoid is one of the most important pigments that have important roles for human health. Carotenoids are believed to improve the better immune responses, anticancer, antioxidant, provitamin A and are also used in the treatment of disease that are sensitive to light. Carotenoids are yellow pigments, orange to red pigments and usually found in vegetables and fruits, and are also found in animals, humans, fungi and bacteria. The aims of study were to analyze carotenoid pigments from bacterial symbionts from seaweed *Kappaphycus alvarezii* and to identify bacterial symbionts that produce carotenoid pigments. Pigment analysis was performed by a UV-VIS spectrophotometer and High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Bacterial identification was performed based on biochemical tests. These results showed that from 12 bacterial symbionts isolated, there were 2 isolates that positively synthesize carotenoids pigments, ECJ K and ECJ OR bacteria. ECJ K bacterium contained of Violaxanthin and α -carotene pigments. While ECJ OR bacterium contained of Diadinoxanthin, Neoxanthin, γ -carotene, β -carotene and α -carotene pigments. Bacterial identification showed that ECJ K bacterium was *Brevibacterium maris* and ECJ OR bacterium was *Micrococcus varians*. This result showed that bacterial symbionts of seaweed *Kappaphycus alvarezii* contained various pigments including in carotenoid pigments.

Keywords : symbiont bacteria; *Kappaphycus alvarezii*; Carotenoids; HPLC; Biochemical tests

^{*)} Penulis Penanggung Jawab



PENDAHULUAN

Rumput laut tergolong ke dalam 3 kelas : Chlorophyta (rumput laut hijau), Phaeophyta (rumput laut coklat) dan Rhodophyta (rumput laut merah). Tiap kelas mempunyai ciri kandungan pigmen tertentu (Murtoyo *et al.*, 2010). Selain mineral, vitamin, polisakarida dan serat, kandungan nutrisi yang penting pada alga merah adalah pigmen. Pigmen dominan yang terdapat pada alga merah adalah klorofil a, klorofil d, zeaxantin, likopen, kriptoxantin, α -karoten, β -karoten, lutein, dan pikobilin (Fretes *et al.*, 2012).

Karotenoid merupakan salah satu kelompok pigmen yang utama selain klorofil dan memiliki warna kuning, orange serta merah. Karotenoid diproduksi oleh berbagai jenis organisme, mulai dari non fototropik prokariot sampai tumbuhan tingkat tinggi, dengan lebih dari 700 struktur berbeda yang teridentifikasi saat ini (Stafsnes *et al.*, 2010). Karotenoid memiliki peran penting bagi kesehatan manusia. Karotenoid dipercaya dapat meningkatkan respon imunitas yang lebih baik, anti kanker, antioksidan dan juga sebagai treatment penyakit yang sensitif terhadap cahaya (Nugraheni, 2010). Karotenoid merupakan pigmen yang biasanya ditemukan dalam sayuran, buah-buahan dan dapat pula ditemukan pada fungi, hewan, manusia dan bakteri. (Gross, 1991).

Bakteri iasanya hidup pada suatu inang dengan melakukan simbiosis yang saling menguntungkan. Menurut Radjasa (2007) bakteri yang terdapat pada suatu inang, disinyalir akan memiliki pigmen yang mirip dengan inangnya.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Thirumaran (2009), rumput laut *K.*

alvarezii mempunyai pigmen karotenoid dan klorofil. Persentase kandungan karotenoid lebih besar dibandingkan dengan persentase klorofilnya. Dalam penelitian ini, untuk menghindari pengambilan rumput laut *K. alvarezii* dalam skala yang besar maka dipergunakanlah bakteri. Oleh karena itu penggunaan bakteri tersebut memiliki sifat yang ramah lingkungan. Selain itu bakteri juga dapat dikultivasi dalam jumlah yang sangat banyak dalam waktu yang relatif cepat.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh dan mengidentifikasi pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis rumput laut *K. alvarezii* serta untuk mengetahui jenis bakteri simbiosis tersebut.

MATERI DAN METODE

Sampling dan isolasi bakteri simbiosis

Sampel rumput laut *K. alvarezii* diambil dari Perairan Kauman Jepara pada kedalaman 0,5–1 m menggunakan pisau kemudian dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan sementara dalam *cool box*. Sampel dibersihkan dengan menggunakan air laut steril untuk menghilangkan kotoran, tanaman dan mikroorganisme epifit yang menempel di permukaannya. Kemudian dilakukan pengenceran terhadap sampel. Hasil pengenceran diambil sebanyak 100 μ L lalu disebar pada permukaan media Zobell 2216E dengan menggunakan *spreader* dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 3 hari (Radjasa *et al.*, 2003). Koloni bakteri simbiosis yang berwarna kuning/orange diseleksi dan dipurifikasi.

Ekstraksi pigmen bakteri simbiosis

Bakteri simbiosis 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 menggunakan mikropipet, dimasukkan dalam botol vial dan dikeringkan menggunakan gas N₂ sehingga diperoleh ekstrak kasar pigmen karotenoid. Ekstrak kasar pigmen tersebut ditambahkan dengan asetonitril ± 5mL.

Identifikasi dan analisis kandungan pigmen

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

Identifikasi bakteri simbion

Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan uji morfologi dan biokimia berdasarkan Cowan and Steels (1974) dan Bergey's (1962). Pengamatan morfologi meliputi pengamatan koloni bakteri, pengamatan bentuk sel, pengecatan Gram dan juga pengamatan motilitas. Uji biokimia meliputi Uji H₂S, uji glukosa, uji fruktosa, uji sukrosa, uji indol, uji katalase, uji oksidase, uji gelatin, uji pigmen, uji NO₃ dan juga uji Voges Proskauer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampling dan isolasi bakteri simbion

Sampel rumput laut *K. alvarezii* yang digunakan dalam penelitian ini memiliki warna coklat, thallus berbentuk silindris, permukaannya licin dan bersifat *cartilaginous* (Gambar 1).

Hasil isolasi bakteri dalam cawan petri ditemukan 12 koloni bakteri dan diantaranya terdapat 2 jenis bakteri yang mengandung pigmen karotenoid yaitu koloni bakteri berwarna kuning (ECJ K) dan orange (ECJ OR). Hasil karakter morfologi bakteri simbion disajikan pada Tabel 1.

Ekstraksi pigmen bakteri simbion

Hasil dari proses ekstraksi pigmen bakteri simbion ECJK dan ECJ OR dapat dilihat pada Gambar 2.

Identifikasi dan Analisis kandungan pigmen

Hasil analisis ekstrak kasar pigmen bakteri simbion ECJ K dan ECJ OR dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh pola spectra dengan 3 puncak di daerah 400 – 500 nm (Gambar 3). Menurut Harbone (1987) dan Gross (1991) pola spectra dengan 3 puncak yang jelas di daerah 400 – 500 nm merupakan indikasi pigmen karotenoid.

Hasil analisis ekstrak kasar pigmen dengan menggunakan KCKT diperoleh 2 peak dominan untuk bakteri ECJ K dan 6 peak dominan untuk bakteri ECJ OR (Gambar 4). Setelah itu dilakukan pencacahan pada detektor 450 nm untuk mengetahui jenis pigmen karotenoid yang terkandung.



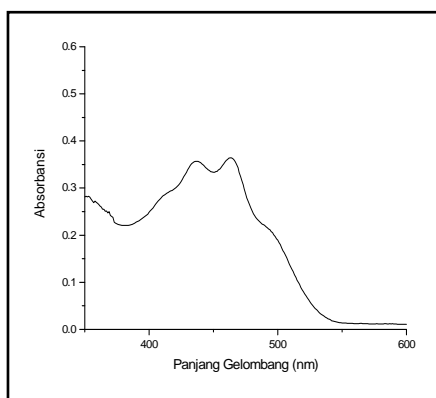
Gambar 1. Sampel *K. alvarezii*

Tabel 1. Karakter morfologi bakteri simbiosis pada rumput laut *K. alvarezii*

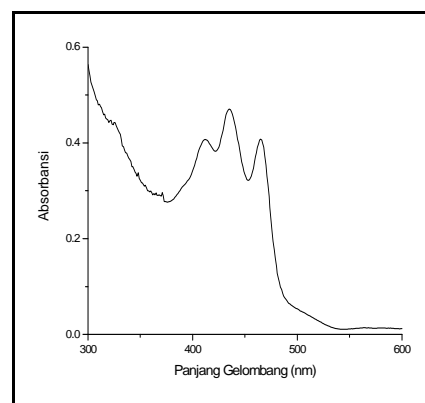
| Bakteri | Warna | Bentuk | Tekstur |
|----------------|------------------|-----------------|----------------|
| 1 | Putih susu | Bulat | Datar |
| 2 | Putih susu | Tidak beraturan | Datar |
| 3 | Putih transparan | Bulat | Datar |
| 4 | Putih susu | Bulat telur | Cembung |
| 5 | Putih transparan | Bulat telur | Cembung |
| 6 | Orange | Bulat | Datar |
| 7 | Putih susu | Bulat | Cembung |
| 8 | Putih transparan | Tidak beraturan | Datar |
| 9 | Orange | Bulat | Datar |
| 10 | Putih susu | Bulat telur | Datar |
| 11 | Putih susu | Bulat telur | Cembung |
| 12 | Kuning | Bulat | Datar |



Gambar 2. Pigmen hasil ekstraksi warna kuning (kiri) dan orange (kanan)

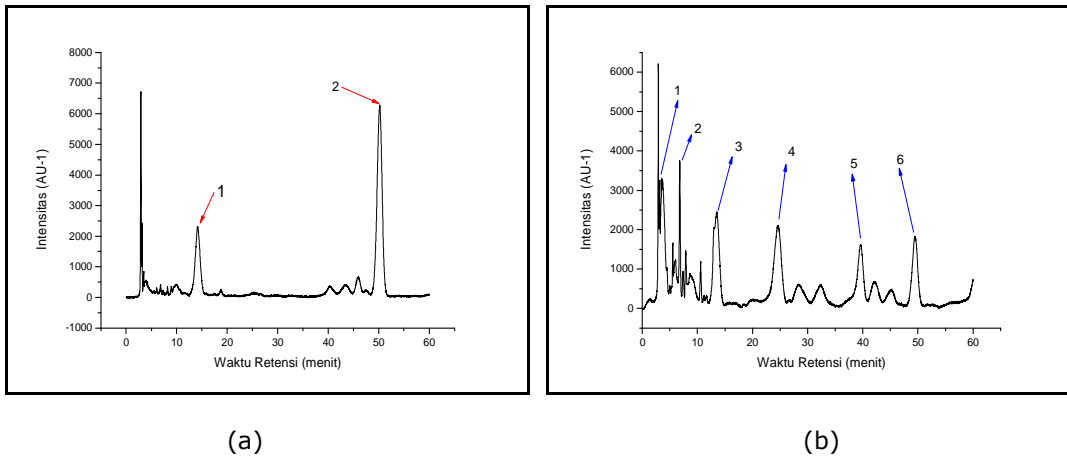


(a)

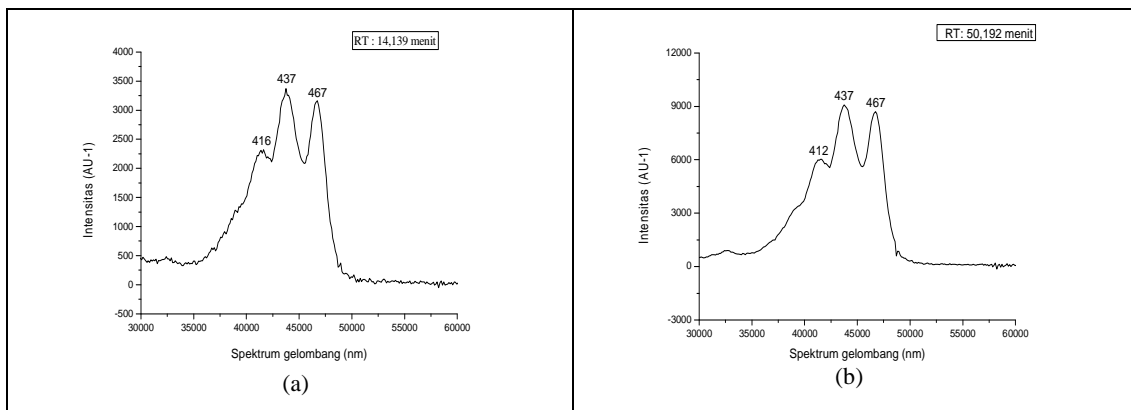


(b)

Gambar 3. (a) Ekstrak kasar pigmen ECJ OR mengindikasikan golongan pigmen karotenoid dengan puncak 415 435 462 nm (b) ekstrak kasar pigmen ECJ K mengindikasikan golongan pigmen karotenoid dengan puncak 411, 435, 464 nm.



Gambar 4. (a) Profil kromatogram ekstrak pigmen kasar bakteri simbiosis dengan menggunakan KCKT (a) ECJ K menampakkan 2 peak dominan (b) ECJ OR menampakkan 6 peak dominan.



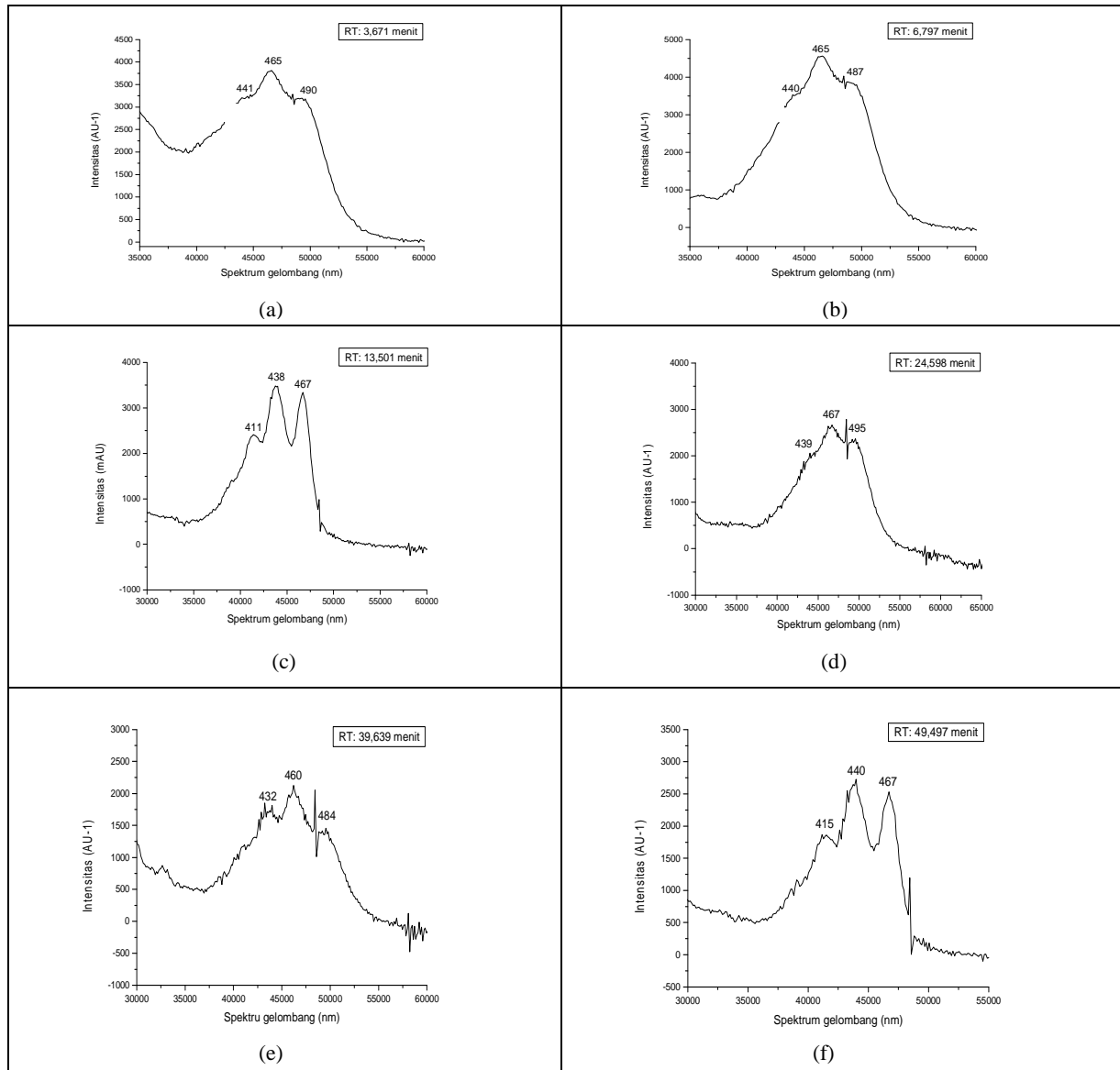
Gambar 5. Pola spektrum ekstrak kasar pigmen bakteri ECJ K pada waktu retensi (a) 14,139 menit dan (b) 50,192 menit

Bakteri ECJ K yang memiliki 2 peak dengan waktu retensi berbeda mengindikasikan bahwa dalam bakteri ECJ K minimal terdapat 2 biopigmen. Hasil pola spektrum pada detektor 450 nm disajikan pada Gambar 5. Perbandingan serapan maksimum pigmen bakteri ECJ K dan referensi disajikan pada Tabel 2.

Bakteri ECJ OR memiliki 6 peak dengan waktu retensi berbeda yang mengindikasikan bahwa bakteri ECJ OR terdapat 6 biopigmen (Gambar 6). Serapan maksimum masing-masing komponen hasil KCKT pada ekstrak kasar pigmen bakteri ECJ OR dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Serapan maksimum masing-masing komponen hasil KCKT pada ekstrak kasar pigmen bakteri ECJ K.

| Puncak | Waktu retensi (menit) | Komponen | Absorbansi maksimum (nm) | | Luas area rata-rata (%) |
|--------|-----------------------|-------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|
| | | | Hasil | Chen <i>et al.</i> (2004) | |
| 1 | 14,139 | Violaxanthin | 416, 437, 467 | 415, 441, 471 | 29,71 |
| 2 | 50,192 | α -karoten | 412, 437, 467 | 411, 447, 476 | 70,29 |



Gambar 6. Pola Spektrum ekstrak kasar pigmen pada bakteri ECJ OR pada waktu retensi (a) 3,671 menit (b) 6,797 menit (c) 13,501 menit (d) 24,598 menit (e) 39,639 menit dan (f) 49,497 menit.

Tabel 3. Serapan maksimum komponen hasil KCKT pada ekstrak kasar pigmen bakteri ECJ OR.

| Puncak | Waktu retensi (menit) | Komponen | Absorbansi maksimum (nm) | | Luas area rata-rata (%) |
|--------|-----------------------|----------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|
| | | | Hasil | Referensi | |
| 1 | 3,671 | Diadinoxanthin | 465, 490 | 460, 480*** | 15,98 |
| 2 | 6,797 | Diadinoxanthin | 465, 487 | 460, 480*** | 10,25 |
| 3 | 13,501 | Neoxanthin | 411, 438, 467 | 412, 435, 465** | 18,41 |
| 4 | 24,598 | γ-karoten | 439, 467, 495 | 438, 464, 496* | 22,24 |
| 5 | 39,639 | β-karoten | 432, 460, 484 | 429, 452, 481* | 14,90 |
| 6 | 49,497 | α-karoten | 415, 440, 467 | 411, 447, 476** | 18,22 |

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

** berdasarkan Chen *et al.* (2004)

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

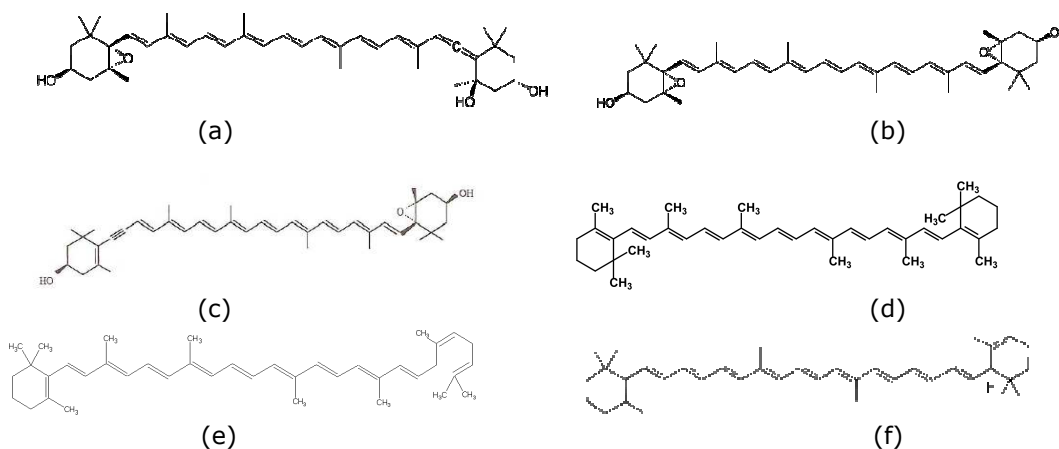
Neoxanthin merupakan pigmen karotenoid dari golongan xantofil. Pada tumbuhan, xantofil merupakan perantara dalam biosintesis asam absisat. Neoxanthin kebanyakan ditemukan dalam sayuran berdaun hijau seperti bayam (Bouvier *et al.*, 2000). Struktur kimia dari pigmen Neoxanthin dapat dilihat pada Gambar 7 (a).

Violaxanthin merupakan pigmen karotenoid golongan xanthofil. Violaxanthin memiliki rumus kimia yang sama dengan Neoxanthin yaitu $C_{40}H_{56}O_4$ serta memiliki massa molekul 600.87 g/mol. Struktur kimia dari pigmen Violaxanthin dapat dilihat pada Gambar 7 (b).

Diadinoxanthin merupakan pigmen karotenoid dari golongan xanthofil. Diadinoxanthin ini biasanya ditemukan pada diatom dan juga dinoflagelata. Lamun dari jenis

Thalassia hemprichii juga menghasilkan Diadinoxanthin dan bakteri penghasil pigmen yang berasosiasi dengan *T. hemprichii* adalah *Bacillus licheniformis*. Struktur kimia dari Diadinoxanthin dapat dilihat pada Gambar 7 (c).

Pigmen β-karoten, γ-karoten dan α-karoten merupakan karotenoid yang tergolong pigmen karoten. Pigmen ini biasanya ditemukan dalam buah-buahan maupun sayuran yang berwarna kuning, orange dan hijau. Menurut Yan *et al.* (1999) β-karoten, γ-karoten dan α-karoten berfungsi sebagai provitamin A, meningkatkan sistem kekebalan, penurunan resiko penyakit penyempitan pembuluh darah, kanker dan penyakit yang memiliki hubungan tekanan oksidatif. Struktur kimia dari β-karoten, γ-karoten dan α-karoten dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Gambar struktur kimia dari pigmen Neoxanthin (a), Violaxanthin (b), Diadinoxanthin (c), β-karoten (d), γ-karoten (e) dan α-karoten (f) (Jeffrey, 1997).



Berdasarkan hasil identifikasi pigmen pada bakteri simbiosis *K. alvarezii* di atas ternyata memiliki kemiripan yang hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Thirumaran (2009), Dewangga (2010), Indrawati *et al.* (2010) dan Fretes *et al.* (2011). Menurut Thirumaran (2009) dan Fretes *et al.* (2011) *K. alvarezii* yang berwarna coklat akan memiliki kandungan pigmen karotenoid yang lebih besar jika dibandingkan dengan *K. alvarezii* yang berwarna merah maupun hijau. Menurut Dewangga (2010) pigmen yang dikandung dalam *K. alvarezii* adalah pigmen utama berupa karoten, turunan klorofil, klorofil a, xantofil dan turunan xantofil sedangkan menurut Indrawati *et al.* (2010) menyatakan bahwa kandungan karotenoid yang dikandung oleh *K. alvarezii* merupakan β -karoten dengan serapan maksimal pada 478,5 nm.

Identifikasi bakteri simbiosis

Hasil identifikasi bakteri baik ECJ K dan ECJ OR dengan menggunakan uji biokimia disajikan pada Tabel 6.

Bakteri ECJ K adalah *Brevibacterium maris*. Bakteri *B. maris* memiliki habitat hidup di tanah, air tawar, air asin dan sampah. Pertumbuhan terjadi antara 10-37°C dan tidak teramati pada suhu 4 atau 42°C. Memiliki pH optimum untuk pertumbuhan sekitar 7,0 - 7,5. Namun pertumbuhan masih bisa diamati pada pH 5,2 dan 8,0 tetapi tidak diluar kisaran tersebut. Toleran terhadap NaCl hingga 2,5%, tetapi tidak lebih tinggi. *B. maris* juga ditemukan di dalam susu dan produk susu tetapi tidak menimbulkan perubahan tekstur, citarasa dan warna.

Menurut Dufosse and Echanove (2005), pada permukaan keju yang matang mengandung pigmen isorenieratene dan bakteri yang menghasilkan adalah *B. linens* dan *B. aurantiacum*. Penelitian lain menunjukkan bahwa *Brevibacterium* sp. mengandung pigmen karotenoid yaitu canthaxanthin dan astaxanthin (Nelis and De Leenheer, 1991).

Bakteri ECJ OR adalah *Micrococcus varians*. Bakteri *Micrococcus* sp. biasanya ditemukan pada air, debu dan tanah. Dari genus *Micrococcus* kebanyakan koloni bakterinya berwarna kuning, orange sampai merah, sesuai dengan warna dari karotenoid. *M. luteus* memiliki koloni berwarna kuning, *M. roseus* memiliki koloni berwarna pink dan *M. varians* memiliki koloni berwarna orange.

Menurut Stafsnes (2010), pigmen pada *M. luteus* merupakan Sarcinaxanthin dan Sarchinaxanthin diglycoside. Ungers and Cooney (1968) menyatakan bahwa pigmen pada bakteri *M. roseus* adalah Canthaxanthin, turunan α -karoten dan turunan β -karoten.

Abdelnasser (2008) menyatakan bahwa *Micrococcus* sp. mengandung pigmen karotenoid deccaproxanthin diglucoside, deccaprenoxanthin serta deccaproxanthin monoglucosides dalam jumlah yang besar.

Tabel 6. Hasil uji biokimia pada bakteri ECJ K dan ECJ OR

| Uji Biokimia | ECJ K (kuning) | ECJ OR (orange) |
|------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| Bentuk | Batang pendek | Coccus |
| Gram | + | + |
| Spora | - | - |
| Motility | - | - |
| H ₂ S | - | - |
| An aerobic | - | - |
| Aerobik | + | + |
| Aerogenik | - | + |
| O/F(Glukosa) | - | + |
| Sukrosa | x | + |
| Fruktosa | x | + |
| Indol | - | - |
| Katalase | + | + |
| Oksidase | - | + |
| Gelatin | - | + |
| Pigmen | + | + |
| NO ₃ | x | + |
| VP | x | - |
| Keterangan | : (+) : hasil positif | (-) : hasil negatif (x) : tidak diuji |

KESIMPULAN

Bakteri simbion rumput laut *K. alvarezii* mengandung pigmen karotenoid dimana bakterium *B. maris* mengandung pigmen Violaxanthin dan α -karoten, sedangkan bakterium *M. varians* mengandung pigmen Diadinoxanthin, Neoxanthin, γ -karoten, β -karoten dan α -karoten. Hasil penelitian ini menunjukkan potensi bakteri simbion rumput laut *K. alvarezii* sebagai salah satu sumber pigmen alami yang berasal dari laut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada semua pihak dan instansi yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penulisan jurnal ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abdelnasser, Salah Shebl Ibrahim. 2008. Production of Carotenoids by a Newly Isolated Marine *Micrococcus* sp. *J. Biotech.* 7 (3): 469-474.

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.

Bouvier, F., D'harlingue, A., Backhaus, R.A., Kumagai, M.H., Camara, B. 2000. Identification of Neoxanthin Synthase as a Carotenoid cyclase paralog. *Eur. J. Biochem.* 267 (21): 6346-6352.

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. Chromatogr. A.* 1054: 261-268.

Cowan, S. T. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. 2nd edition. Cambridge University Press. London. 238 hlm.

Dewangga, Ian G. 2008. Studi Pengaruh Pengeringan terhadap Kandungan dan Komposisi Pigmen Utama Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (1986). (Skripsi) Program Sarjana Jurusan Ilmu Kelautan UNDIP. Semarang.

Dufosse, L., M.C. de Echanove. 2005. The Last Step in the Biosynthesis of Aryl Carotenoids in the Chinese Ripening



- Bacteria *Brevibacterium linens* ATCC 9175 (*Brevibacterium aurantiacum* sp. nov.) Involves a Cytochrome P450-Dependent Monooxygenase. *Food. Res. Int.* 38:967-973.
- Frete, de H., A.B. Susanto, L. Limantara, B. Prasetyo, Heriyanto, & T.H.P. Brotosudarmo. 2011. Composition and Content of Pigment, Photostability and Thermostability Studies of Crude Pigment Extracts from Red, Brown, and Green Varieties of Red Algae *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty. Seminar ICONS, Universitas Ma Chung, Malang.
- Frete, 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. *Ilmu. Kelautan.* 17 (1) 31-38.
- Gross, J., 1991. Pigment in Vegetables. Van Nostrand Reinhold. New York. 351 hlm.
- Harbone, J. B. 1987. Metode Fitokimia : Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan Edisi Kedua. Penerbit ITB. Bandung. 354 hlm. (diterjemahkan oleh K. Padwaminata dan I. Soediro).
- Indrawati, R., Heriyanto, L. Limantara, & A. Susanto. 2010. Study of Pigment Distribution in the Steam, Leaf and Vesicle of *Sargassum filipendula* C. Agardh, *Sargassum polycistum* C. Agardh and other *Sargassum* spp. From Madura Waters by High Performance Liquid Chromatography *Proc. NP-SEA.* Malang. MRCP, 275-280.
- Maeda, H., Masashi, H., Tokute, S., Katsura, F., Kazuo, M. 2005. Fucoxanthin from Edible Seaweed, *Undaniria pinnatifida*, Show Antiobesity Effect Through UCPI Expression in White Adipose Tissues. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 323: 392-397.
- Murtoyo, A.B. Susanto, M.M. Khoeri. 2010. Rumput Laut Sebagai Penghasil Agar dan Karaginan. *Yayasan Rumput Laut Indonesia* (1) : 1-116.
- Nelis, H.J. and A.P. De Leenheer. 1991. A Review Microbial Sources of Carotenoid Pigments Used in Food and Feeds. *J. Appl. Bacteriol.* 70: 181-191.
- Nugraheni, A. S., M. Majid K., Lia Kusmita, Yustin W., dan O.K. Radjasa. 2010. Characterization of Carotenoid Pigment from Bacterial Symbionts of Seagrass *Thalassia hemprichii*. *J. Coast. Dev.* 14 (1): 51-60.
- N.R. Smith. 1962. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* 7th ed. : Williams and Walkins Co. Baltimore, Maryland, Amerika Serikat.
- Radjasa, O. K., T. Marten, T. Brinkoff, Hans-Peter G., A. Sabdono, Meinhard S. 2003. Antibacterial Activity of a Secondary Metabolite-Producing Coral Bacterium *Pseudoalteromonas* sp. *J. Coast. Dev.* 7 (2) : 79-88.
- 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, 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 *Sinuaria polydactyla* Against *Streptococcus equi* Subsp. *Zoopidemicus*. *Int. Pharmacol.* 3 (2) : 170-174.
- Stafsnes, M. H., Kjell, D. J., Geir, K. A., Svein Valla, Trond E. E. And Per 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.
- Thirumaran, G., K. Manivannan, G. Karthikai D., P. Anantharaman and T. Balasubramanian. 2009. Photosynthetic Pigments of Different Colour Strain of the Cultured Seaweed *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex. P. Silva in Vellar Estuary. *J. Plant Sci.* 2 (3): 150-153.
- Ungers, E. G., J.J. Cooney. 1986. Isolation and Characterization Pigments of *Micrococcus roseus*. *J. Bacteriol.* 96 (1): 234-241.
- Yan X, Chuda Y. Suzuki M. , Nagata T . 1999. Fucosantin As The Major Antioxidant In *Hijikia Fusiformis*, A Common Edible Seaweed. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 63: 605-607.