



IDENTIFIKASI PIGMEN KAROTENOID PADA BAKTERI SIMBION KARANG *Pocillopora damicornis*

Ryandha Idris^{*)}, Ita Riniatsih, Delianis Pringgenies

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

Email : Journalmarineresearch@gmail.com

Abstrak

Karotenoid merupakan pigmen merah, kuning dan orange yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Karotenoid dapat ditemukan pada tanaman, hewan dan bakteri. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi pigmen karotenoid pada bakteri simbion karang *Pocillopora damicornis*. Identifikasi pigmen menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 190-800 nm dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) fase terbalik ODS/C18 dengan fase gerak metanol:asetonitril (7:3 v/v) pada panjang gelombang 190-800 nm. Uji DPPH dilakukan dengan metode diphenylpicrylhydrazil (DPPH) dan pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Identifikasi bakteri simbion karang *Pocillopora damicornis* dilakukan menggunakan metode PCR 16S rDNA. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa dari 9 isolat bakteri simbion terdapat 1 isolat bakteri simbion karang *Pocillopora damicornis* yang positif memiliki pigmen kaotenoid yaitu 5.A.4. Isolat 5.A.4 mengandung pigmen karotenoid Prasinoxanthin, Alloxanthin, Siphonein dan Crocoxanthin yang merupakan kelompok xantofil dan memiliki aktivitas peredaman radikal bebas DPPH sebesar 6,12%. Hasil identifikasi bakteri dengan metode PCR 16S rDNA menunjukkan bahwa isolat bakteri 5.A.4. memiliki tingkat kekerabatan sebesar 99% dengan bakteri *Bacillus subtilis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri karang *P. damicornis* mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai sumber pigmen alami yang berasal dari laut dan berkelanjutan.

Kata Kunci: Pigmen, Karotenoid, Bakteri Simbion, *P. damicornis*

Abstract

Carotenoids are pigments of red, yellow and orange are known to have antioxidant activity. Carotenoids can be found on plants, animals and bacteria. The research aims to identify bacterial carotenoid pigments in the coral *Pocillopora damicornis* symbionts. Identification of pigments using UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 190-800 nm and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) reversed phase ODS/C18 with a mobile phase of methanol: acetonitrile (7:3 v / v) at a wavelength of 190-800 nm. DPPH test was conducted using diphenylpicrylhydrazil (DPPH) and absorbance measurements made at a wavelength of 517 nm. Identification of bacterial symbionts of coral *Pocillopora damicornis* performed using 16S rDNA PCR method. The results showed that the bacterial symbionts of 9 isolates contained 1 isolate bacterial symbionts of *P. damicornis* positive have kaotenoid pigment which 5.A.4. 5.A.4 isolates containing carotenoid pigments Prasinoxanthin, Alloxanthin, Siphonein and Crocoxanthin which is xantofil groups and has activity DPPH free radical reduction by 6.12%. The results of bacterial identification by PCR of 16S rDNA showed that bacterial isolates 5.A.4. has a rate of 99% kinship with *Bacillus subtilis* bacteria. The results showed that the bacterium *P. damicornis* corals have the potential to be developed as a source of natural pigments derived from marine and sustainable.

Keywords: Pigment, Carotenoids, Symbiont Bacteria, *P. damicornis*

^{*)} Penulis Penanggung Jawab

Pendahuluan

Pigmen atau bahan pewarna sekarang ini sangat dibutuhkan dibidang industri pangan sebagai pewarna makanan maupun bidang kesehatan. Bidang kesehatan pigmen dimanfaatkan sebagai anti-tumor, anti-inflamasi, anti-obesitas, meningkatkan kemampuan otak serta sebagai antioksidan (Nugraheni 2010). Salah satu jenis pigmen alami yang memiliki potensi besar adalah karotenoid. Karotenoid merupakan pigmen kuning, orange sampai merah yang bersumber dari tanaman, hewan, fungi, manusia dan bakteri. Lebih dari 700 struktur senyawa berbeda yang telah diidentifikasi sampai saat ini dan salah satunya memiliki manfaat sebagai pewarna makanan dan prekursor vitamin A. Karotenoid juga dipercaya berpotensi sebagai agen antioksidan dengan mekanisme menangkal radikal bebas (Nugraheni, 2010). Pigmen karotenoid biasanya dijumpai pada sayuran, buah-buahan, hewan, manusia dan bakteri (Gross, 1991).

Pigmen yang berhasil diisolasi dari bakteri simbiosis telah banyak ditemukan. Arlita *et al.*, (2013) berhasil mengisolasi bakteri *Paracoccus caliphilus* dan *Brevibacterium maris* dari rumput laut *Caulerpa cupresoides* yang menghasilkan pigmen karotenoid golongan Xantofil dan karoten. Bakteri biasanya hidup pada suatu inang dengan melakukan simbiosis yang saling menguntungkan. Radjasa (2003) menyatakan bakteri pada suatu inang menghasilkan pigmen yang mirip dengan inangnya. Bakteri dapat digunakan sebagai alternatif sumber baru karena bakteri memiliki sifat ramah lingkungan dan dapat dikultur secara masal dalam waktu yang relatif cepat. Bakteri simbiosis yang menghasilkan pigmen juga dapat ditemukan pada karang.

Karang memiliki warna yang menarik dan bervariasi seperti merah, biru, hijau,

coklat dan kuning yang berpotensi sebagai penghasil pigmen alami. Seperti yang dilakukan oleh Oswald *et al.*, (2006), bahwa cyanobacteria yang bersimbiosis dengan karang *Montastrea cavernosa* mampu menghasilkan pigmen fikokserin. Selain itu, terdapat karang *P. damicornis* yang juga memiliki warna menarik seperti merah, coklat dan kuning namun belum banyak informasi mengenai bakteri simbiosis *P. damicornis* yang menghasilkan pigmen alami.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi pigmen karotenoid dari bakteri simbiosis karang *P. damicornis* yang memiliki potensi sebagai penangkal radikal bebas.

Materi dan Metode

a. Pengambilan Sampel dan Isolasi Bakteri Simbiosis

Sampel karang *Pocillopora damicornis* diambil dari perairan Teluk Awur Jepara. Sampel karang seberat 5 gram langsung dimasukkan kedalam botol sampel yang sebelumnya telah diisi air laut dan dimasukkan kedalam cool box. Selanjutnya sampel dibilas dengan air laut steril untuk membersihkan bakteri perairan yang menempel pada permukaannya. Sampel jaringan karang dihancurkan, kemudian dimasukkan ke dalam 5 mL air laut steril, dengan demikian diperoleh pengenceran sampel sebesar 10^0 . Diambil 0,5 ml dari pengenceran 10^0 tersebut dengan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4,5 ml air laut steril sehingga diperoleh pengenceran sebesar 10^{-1} . Demikian selanjutnya sehingga akan diperoleh pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} . Kemudian diambil sebanyak 100 μ L dari tiap pengenceran dan disebar pada permukaan media Zobell 2216E dengan menggunakan *spreader* dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C (Radjasa, 2003). Koloni yang berwarna

kuning dan orange (5.A.4) diseleksi dan dipurifikasi.

b. Identifikasi Bakteri

DNA dari kultur bakteri yang diinkubasi selama 24 jam diekstraksi dengan menggunakan *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Roche). Amplifikasi DNA dengan PCR 16S rDNA dilakukan dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 5 menit sebagai pemanasan awal, kemudian 30 siklus (*annealing* pada suhu 94°C selama 30 detik, *extension* pada suhu 54°C selama 60 detik dan denaturasi kembali pada suhu 72°C selama 120 detik) dan terakhir pada suhu 4°C masa inkubasi. Primer yang digunakan untuk PCR 16S rDNA adalah primer universal 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') dan primer spesifik eubacteria 1492R (5'-TACGGYTACCTGTTACGACTT-3') (Isnansetyo dan Kamei, 2003). Elektroforesis dilakukan dengan gel agarose berkonsentrasi 1 %. Alat dijalankan dengan voltase 100 V selama ± 45 menit. Hasil elektroforesis tersebut diamati dengan UV Illuminator. Sekuensing dilakukan menurut siklus PCR sekuensing menggunakan *Big Dye Terminator v.3.1* dan hasilnya dibandingkan dengan sekuen DNA pada basis data (database) DNA pada *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada *National Center for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA* (www.ncbi.nlm.nih.gov) (Altschul *et al.*, 1997).

c. Kultur Bakteri dan Ekastraksi

Kultur bakteri untuk mendapatkan biomassa bakteri dilakukan secara bertingkat pada media Zobell 2216E cair. Bakteri dipanen dan disentrifugasi sehingga dihasilkan pelet dan ditimbang berat basahnya. Pelet yang didapat dilarutkan menggunakan metanol untuk memisahkan antara bakteri dengan

pigmennya dan dialiri gas Nitrogen sehingga didapatkan ekstrak kasarnya. Ekstrak kasar bakteri ditimbang berat keringnya dan dilarutkan kembali menggunakan pelarut metanol.

d. Identifikasi Pigmen

Ekstrak kasar yang diperoleh dari ekstraksi bakteri, dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis CARY 50 pada panjang gelombang 190-800 nm dan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) Shimadzu LC 20-AB fase terbalik ODS/C18, 5 µl, diameter 4 mm x 25 mm dengan fase gerak metanol:asetonitril (7:3 v/v), dengan kecepatan alir 1 ml. menit⁻¹ dan tekanan 1000 psi (Maeda, 2005). Analisis dilakukan pada panjang gelombang 190-800 nm. Hasil analisis KCKT dilakukan pengolahan data menggunakan Software OriginPro 8.1

e. Uji DPPH

Uji DPPH sampel pigmen bakteri mengikuti metode Molyneux (2004) dengan beberapa modifikasi. Metode ini dilakukan dengan menyiapkan DPPH stok 0,1 mM sebanyak 3 ml dan ditambahkan kedalam 1 ml larutan uji sampel pigmen (konsentrasi 2000 ppm) (untuk kontrol ekstrak diganti dengan metanol) lalu diinkubasi selama 30 menit di ruang gelap. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum DPPH (517 nm) serta dilakukan perhitungan persentase peredaman.

Hasil dan Pembahasan

a. Pengambilan Sampel dan Isolasi Bakteri Simbion

Hasil isolasi dari bakteri simbion karang *Pocillopora damicornis* diperoleh 9 isolat bakteri. Isolat yang mengandung

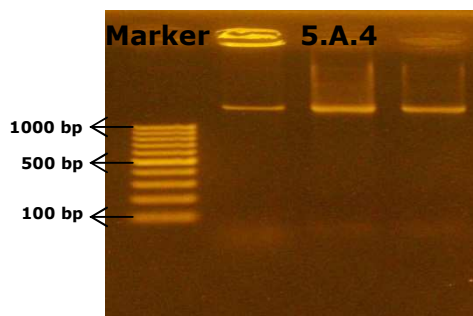
pigmen karotenoid berwarna orange (5.A.4). Menurut Nugraheni (2010), karotenoid memiliki kisaran warna dari kuning, orange hingga merah. Hasil isolasi bakteri simbion karang dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil identifikasi (purifikasi) bakteri berdasarkan morfologi (warna, bentuk dan tekstur) dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Bentuk Koloni dari Isolasi Bakteri Simbion Karang *Pocillopora damicornis*.

b. Identifikasi Bakteri

Berdasarkan hasil ampilfikasi 16S rDNA menunjukkan bahwa isolat bakteri 5.A.4. menghasilkan pita basa 1500 bp sesuai dengan perbandingan menggunakan marker DNA. Menurut Sabdono (2001), ukuran sekitar 1500-1600 bp merupakan ukuran dari sekuen 16S rDNA bakteri. Hasil visualisasi DNA menggunakan elektroforesis disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Visualisasi Band Hasil PCR 16S rDNA pada Sampel Isolat 5.A.4

Analisis menggunakan BLAST diperoleh hasil bahwa isolat bakteri 5.A.4. memiliki kemiripan dengan spesies *Bacillus subtilis* strain A2 dengan homologi sekuen sebesar 99%. Hasil penelusuran homologi isolat 5.A.4 dengan menggunakan BLAST Searching dapat dilihat pada Tabel 2. Isolat yang mempunyai homologi sekuen 16S rDNA antara 93%-97% dapat mewakili identifikasi pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesiesnya, sedangkan persamaan sekuen lebih dari 97% dapat mewakili spesies yang sama (Hagstrom *et al.*, 2000). Hasil analisis pohon filogenetik dari strain 5.A.4 menggunakan *software* MEGA version 5.05 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) dan ClustalX disajikan pada Gambar 3. Hasil analisis menunjukkan bahwa strain 5.A.4 memiliki hubungan kekerabatan dengan *Bacillus subtilis* Strain A2 Sehingga, isolat bakterisimbion karang *Pocillopora damicornis* merupakan bakteri *Bacillus subtilis*.

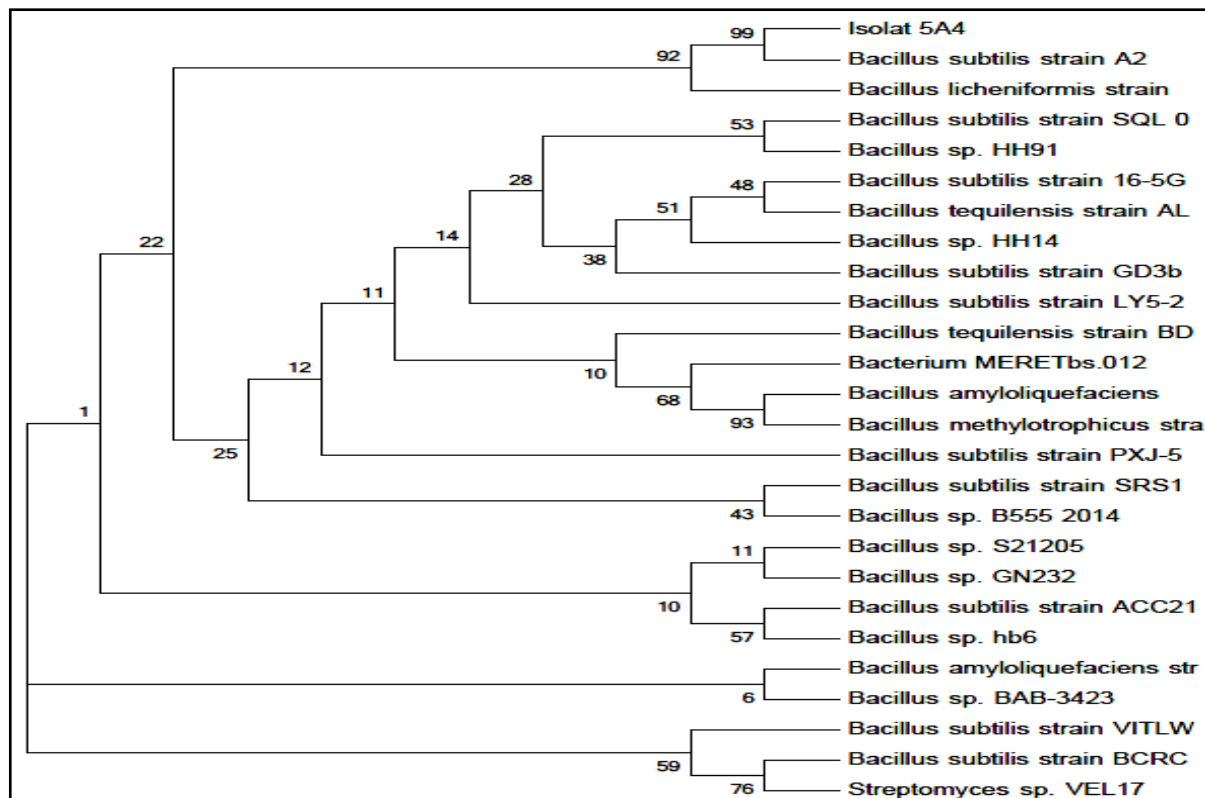
Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif aerob obligat yang memiliki karakter-karakter tertentu dan spesifik. *B. subtilis* termasuk kedalam Kingdom Bakteria, Filum Firmicutes, Kelas Bacilli, Ordo Bacillales, Famili Bacillaceae, Genus Bacillus dan Spesies *B. subtilis* (Madigan, 2005). Bakteri *B. subtilis* memiliki karakteristik seperti bentuk seperti batang (tebal maupun tipis), seperti rantai maupun tunggal. Berdasarkan spora, *B. subtilis* merupakan bakteri penghasil endospora. Memiliki flagella sehingga *B. subtilis* bersifat motil (bergerak bebas).

Tabel 1. Hasil Identifikasi Morfologi Isolat Bakteri Karang *Pocillopora damicornis*

No.	Kode Bakteri	Warna	Bentuk	Tekstur
1	5.A.1	Putih susu	Bulat	Datar
2	5.A.2	Putih transparan	Bulat telur	Datar
3	5.A.3.	Putih susu	Tidak beraturan	Datar
4	5.A.4	Orange	Bulat	Cembung
5	5.A.5	Kuning muda	Bulat	Datar
6	5.A.6	Putih transparan	Bulat	Cembung
7	5.A.7	Putih susu	Bulat berhifa	Datar
8	5.A.8	Kuning muda	Bulat	Cembung
9	5.A.9	Kuning muda	Bulat berhifa	Cembung

Tabel 2. Hasil Penelusuran Homologi Isolat dengan BLAST

No.	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
1	Bacillus subtilis strain A2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	2111	2111	100%	0.0	99%	KC433738. 1



Gambar 3. Pohon Filogenetik dari Hasil Sekuensing 16S rDNA Isolat 5.A.4

B. subtilis biasanya ditemukan pada tanah, air, udara dan materi tumbuhan

yang terdekomposisi (Graumann, 2007). *B. subtilis* juga dapat ditemukan di laut.

Ashwinkumar dan Karutha (2012) berhasil mengisolasi *B. subtilis* dari perairan laut Pantai Pakl. Bakteri *Bacillus* diketahui dapat menghasilkan pigmen. Rashid *et al.*(2014) menemukan bakteri *B. subtilis* berwarna orange yang menghasilkan pigmenpycosianin. Selain itu *B. subtilis* dapat memproduksi pigmen melanin, quinones, prodigiosin,violacein dan phenazine (Yoshida *et al.*, 2009;).

c.Kultur Bakteri dan Ekastraksi

Hasil ekstraksi pigmen karotenoid pada bakteri simbion karang *Pocillopora damicornis* dapat dilihat pada Gambar 4.

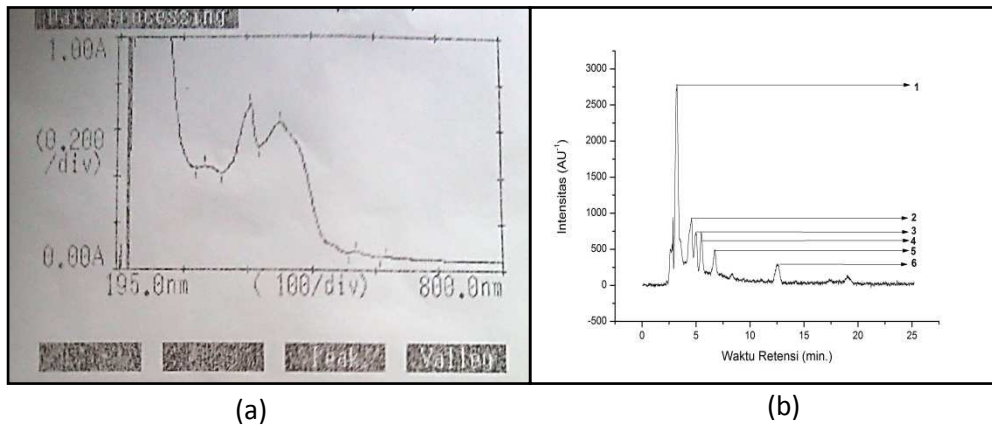


Gambar 4. Hasil Ekstraksi Bakteri Simbion Karang *P. damicornis* (5.A.4).

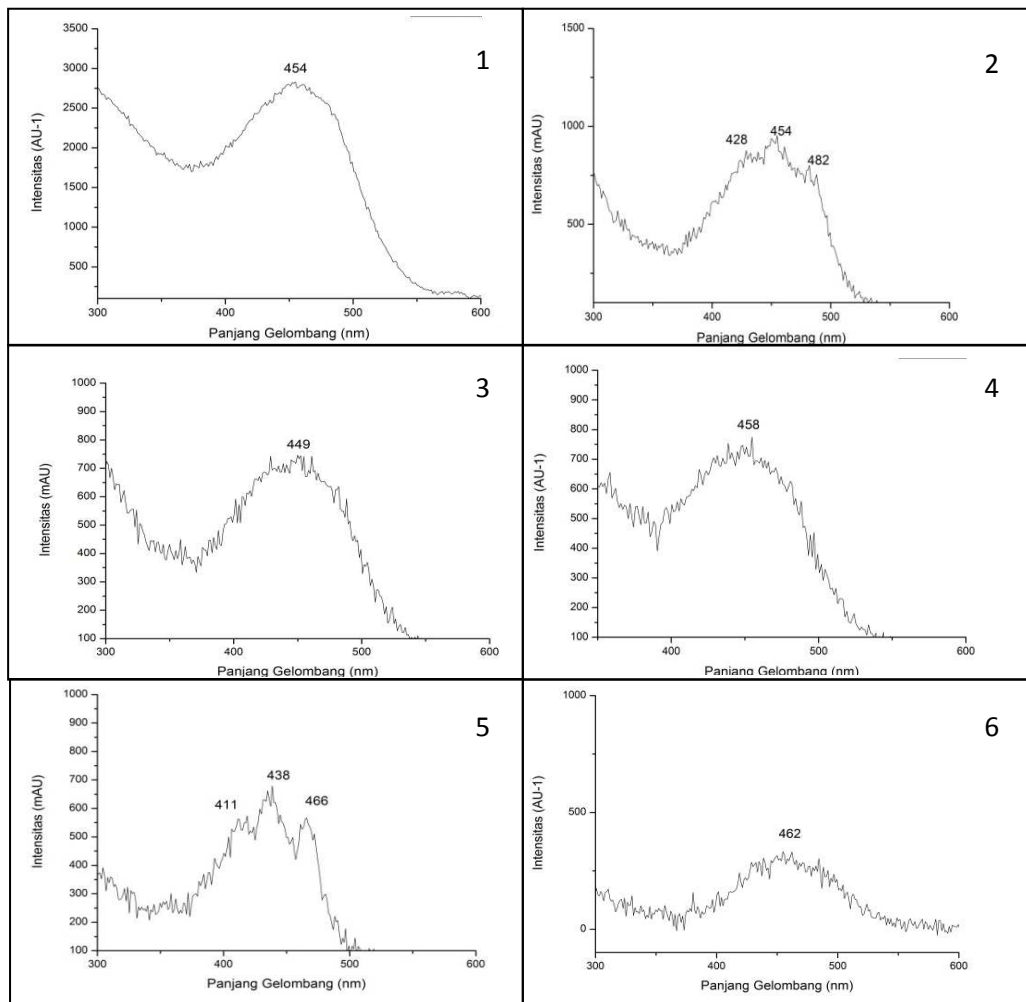
d. Identifikasi Pigmen

Hasil analisis ekstrak kasar pigmen bakteri simbion karang(5.A.4) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh pola spektra dengan puncak pada panjang gelombang 405, 451 dan 570 nm (Gambar 5) yang diindikasikan sebagai pigmen karotenoid. Mengacu pada Choi *et al.*, (2005), bahwa pigmen karotenoid memiliki puncak serapan pada panjang gelombang 400-600 nm (pada daerah cahaya tampak). Setelah itu dilakukan pengolahan data menggunakan *software* OriginPro 8.1 pada detektor 450 nm untuk mengetahui pigmen-pigmen karotenoid yang terkandung pada ekstrak kasar pigmen isolat 5.A.4.

Hasil analisis ekstrak kasar pigmen bakteri simbion karang (5.A.4) menggunakan KCKT diperoleh 6 puncak dominan dengan waktu retensi yang berbeda yang disajikan pada Gambar 5. (5.A.4) Pola spektrum hasil analisis pigmen ekstrak kasar bakteri simbion karang (5.A.4) disajikan pada Gambar 6. Serapan maksimum hasil KCKT komponen ekstrak pigmen bakteri simbion karang (5.A.2) disajikan pada Tabel 3.Puncak serapan yang terdeteksi pada karotenoid disebabkan karena adanya suatu gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi pada daerah-daerah UV dan tampak atau disebut juga dengan kromofor. Kromatogram KCKT ekstrak metanol pigmen isolat 5.A.4 pada gambar 5 menunjukkan adanya 6 puncak utama dengan waktu retensi yang berbeda terpisah dengan baik dan mengindikasikan bahwa bakteri 5.A.4 minimal terdapat 6 biopigmen. Puncak 1-6 terdeteksi secara berturut-turut pada waktu retensi 3.24, 4.58, 4.97, 5.48, 6.76 dan 12.5 menit. Identifikasi pigmen karotenoid dilakukan berdasarkan pola spektrum setiap puncak dan urutan kepolarannya dibandingkan dengan hasil penelitian Zapata *et al.*, (2000) yang menggunakan komposisi pelarut dan fase diam yang hampir sama untuk menganalisa fitoplankton. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari analisis KCKT terdapat 2 puncak (puncak 3 dan 6) dengan serapan maksimum 449 dan 462 nm secara berturut-turut yang tidak dapat diidentifikasi pigmennya. Hal ini disebabkan karena waktu retensi dan puncak serapannya tidak ditemukan pada referensi yang ada.



Gambar 5. (a) Pola Spektra Spektroskopi UV-Vis Ekstrak Pigmen Bakteri Simbion karang *Pocillopora damicornis* (5.A.4) (b) Profil Kromatogram Ekstrak Kasar Pigmen Bakteri Simbion karang (5.A.4) *Pocillopora damicornis* dengan 6 puncak dominan.



Gambar 6. Pola Spektrum Ekstrak Kasar Pigmen Bakteri Simbion karang (5.A.4) dengan waktu Retensi (1) 3.24 menit, (2) 4.58 menit, (3) 4.97 menit, (4) 5.48 menit, (5) 6.76 menit, dan (6) 12.5 menit.

Tabel 3. Serapan Maksimum Hasil HPLC Komponen Ekstrak Kasar Bakteri Simbion Karang (5.A.4)

No. Peak	Waktu retensi (menit)	Komponen	Absorbansi maksimum (nm)	
			Hasil	Referensi
1	3.24	Prasinoxanthin	454	455*
2	4.58	Alloxanthin	428, 454, 482	426, 452, 482*
3	4.97	Xantofil	449	446*
4	5.48	Siphonein	458	458*
5	6.76	Crocoxanthin	411, 438, 466	422, 447, 476*
6	12.5	Xantofil	462	458*

*Berdasarkan Zepata *et al.*(2000)

Sehingga, pigmen pada puncak 3 dan 6 tidak dapat diketahui. Namun, kedua puncak tersebut diduga merupakan pigmen dari golongan xantofil. Puncak 1 dengan waktu retensi 3.24 menit diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 454 nm yang menyerupai pigmen Prasinoxanthin. Puncak 2 dengan waktu retensi 4.58 menit diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 428, 454 dan 482 nm yang menyerupai pigmen Alloxanthin. Puncak 4 dengan waktu retensi 5.48 memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 458 nm yang menyerupai pigmen Siphonein dan puncak 5 dengan waktu retensi 6.76 menit diperoleh serapan maksimum pada panjang gelombang 411, 438 dan 466 nm yang menyerupai pigmen Crocoxanthin. Pigmen karotenoid dapat digolongkan dalam dua kelompok pigmen yaitu karoten dan xantofil. Karoten mempunyai struktur kimia yang hanya terdiri dari C dan H seperti α -karoten, β -karoten dan γ -karoten. Sedangkan xantofil selain memiliki atom C dan H, juga memiliki atom O dalam struktur molekulnya (Gama, 2005). Hasil analisis yang dilakukan pada bakteri 5.A.4 diperoleh pigmen Prasinoxanthin, Alloxanthin, Siphonein dan Crocoxanthin yang merupakan kelompok xantofil.

Prasinoxanthin merupakan pigmen warna merah muda yang memiliki rumus kimia $C_{40}H_{56}O_4$. Prasinoxanthin juga ditemukan pada alga Prasinophyte jenis *Pyconococus provasolii* yang diekstrak menggunakan pelarut metanol (Wright *et al.*, 1991). Pigmen kuning-oranye Alloxanthin memiliki rumus kimia $C_{40}H_{52}O_2$. Siphonein dengan warna merah muda salmon memiliki rumus molekul $C_{52}H_{78}O_5$ serta pigmen kuning Crocoxanthin memiliki rumus kimia $C_{40}H_{54}O$. Wright *et al.* (1991) menyebutkan, bahwa pigmen Siphonein juga ditemukan pada rumput laut jenis *Codium fragile* dan alga *Micromonas pusilla*. Pigmen Alloxanthin dan Crocoxanthin merupakan pigmen yang berasal dari alga Cryptophyte jenis *Chroomonas salina* (Wright *et al.*, 1991).

e. Uji DPPH

Adanya aktivitas peredaman radikal bebas dapat dilihat dari perubahan warna pada larutan DPPH setelah adanya kontak dengan sampel dan berdasarkan nilai serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna terjadi pada larutan DPPH dalam metanol setelah kontak dengan sampel yang semula berwarna violet menjadi kuning. Perubahan warna terjadi karena adanya reaksi antara senyawa *diphenylpicrylhydrazil* (DPPH)

(Radikal) dengan atom H yang dilepaskan oleh molekul pigmen karotenoid (senyawa antioksidan), sehingga terbentuk senyawa *diphenylpicrylhydrazine* (DPPH) (non-radikal yang berwarna kuning). Hasil analisis spektrofotometer ekstrak kasar pigmen isolat 5.A.4 setelah 30 menit kontak dengan DPPH didapatkan nilai serapan maksimum pada kontrol sebesar 0,188. Sedangkan puncak serapan pada sampel uji ulangan 1 diperoleh nilai serapan sebesar 0,176 dan pada ulangan 2 diperoleh nilai serapan sebesar 0,177. Sehingga, setelah dilakukan perhitungan persentase peredaman, ekstrak kasar pigmen isolat 5.A.4 mampu meredam DPPH sebesar 6,12%.

Kesimpulan

Bakteri simbiosis Karang *Pocillopora damicornis* penghasil pigmen karotenoid *Bacillus subtilis* mengandung pigmen Prasinoxanthin, Alloxanthin, Siphonin dan Crocoxanthin yang merupakan kelompok xantofil dan memiliki aktivitas menangkal radikal bebas DPPH sebesar 6,12%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri karang *P. damicornis* 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

- Altscul, S.F., T.L. Madden, A.A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller and D.J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a New Generation of Protein Database Search Program. *Nucleic. Acids. Res.* 25: Hal. 3389-3402.
- Arlita, N. L., Ocky K. R., Adi S. 2013. Identifikasi Pigmen Karotenoid pada Bakteri Simbiosis Rumpuk Laut *Caulerpa cupresoides* (Vahl) C. Agardh. *Journal of Marine Science.* 2(3): Hal. 68-77.
- Choi, K. H., Kimmer W., Smith G, Ruiz G. M. dan Lion K. 2005. Post-Exchange Zooplankton in Ballast Water of Ships Entering the San Francisco Estuary. *J. Plankton Res.* 27: Hal. 707-714.
- Gama, J.J. T. dan Sylos, C.M. Major Carotenoid Composition of Brazilian Valencia Orange Juice: Identification and Quantification by HPLC. 2005. *Food Res. Intern.* 38: Hal. 899-903.
- Graumann, P. 2007. *Bacillus: Cellular and Molecular Biology.* Caister Academic Press.
- Gross, J. 1991. *Pigments in Vegetables. Chlorophylls and Carotenoids.* An Avi Book. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Hagstrom, A., J. Pihassi and U.L. Zweifel. 2000. Biogeographical Diversity Among Marine Bacterioplankton. *Aquat. Microbiol. Ecol.* 21: Hal. 231-244.
- Isnansetyo, A and Y. Kamei. 2003. *Pseudoalteromonas phenolica* sp. nov., A Novel Marine Bacterium that Produces



- Phenolic Anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Substances. *International Journal of Systematic and Evo. Microbiol.* 53: Hal. 583-588.
- Madigan, M. dan Martinko J. (Editors). 2005. Brock Biology of Microorganisms (11th ed.). Prentice Hal.
- Maeda, H., M. Hosokawa, T. Sashima, K. Funayama dan K. Miyashita. 2005. Fucoxanthin From Edible Seaweed, *Undaria pinnatifida*, Shows Antiobesity Effect Through UCP1 Expression in White Adipose Tissues. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 332: Hal. 392-397.
- Molyneux. P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrilhidrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanarin J. Sci. Technol.* 26: Hal. 211-219.
- Nugraheni, S. A., M. M. Khoeri, L. Kusmita, Y. Widyastuti dan O. K. Radjasa. 2010. Characterization of Carotenoid Pigments from Bacterial Symbionts of Seagrass *Thalassia hemprichii*. *J. Coast. Dev.* 14(1): Hal. 51-60
- Oswald F., Florian S., Alexandra L., Sergey I., Cecilia D., Anya S., Svetlana M., Maria B., Reinhold S., Nienhaus G. U., Mikhail V. M. Dan Jorg W. 2007. Contribution of Host and Symbiont Pigments to the Coloration of Reef Corals. *FEBS Journal.* 274: Hal. 1102-1109.
- Radjasa, O. K., 2003. Marine Invertebrate-Associated Bacteria in Coral Reef Ecosystems as a New Source of Bioactive Compounds. *J. Coast. Dev.* 7: Hal. 65-70.
- Rashid, M. M., M. Fakrudidin, Reaz, M. M., Fatema K. dan M. A. Chowdhury. 2013. Anti-bacterial Activity of Pigments Isolated from Pigment-Forming Soil Bacteria. *British Journal of Pharmaceutical Research.* 4(8): Hal. 880-894.
- Sabdon, A. 2006. Biodegradation of chloropyrifos by a marine bacterium *Bacillus firmus* strain BY6 associated with branching coral *Acropora* sp. *Journal of Coastal Development.* 10: Hal. 115-123.
- Wright, S. W., Jeffrey S. W., Mantoura R. F. C., Llewellyn C. A., Bjornland T., Repeta D. dan Welschmeyer N. 1991. Improved HPLC Methode for the Analysis of Chlorophylls and Carotenoids from marine Phytoplankton. *Mar: Ecol. Prog. Ser.* 77: Hal. 183-96
- Yoshida, K., Ueda, S., and Maeda, I. (2009) Carotenoid Production in *Bacillus Subtilis* Achieved by Metabolic Engineering. *Biotechnol. Lett.* 31: Hal. 1789-1793.
- Zapata M., Francisco R. dan Jose L. G. 2000. Separation of Chlorophylls and Carotenoids from Marine Phytoplankton: A New HPLC Methode Using a Reversed Phase C8 Column and Pyridine-Containing Mobile Phase. *Mar Ecol Prog Ser.* 195: Hal. 29-45.