

<p>Full Paper</p>

ANALISIS PIGMEN DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI *IN VITRO* PIGMEN ASTAKSANTIN KEPITING (*Grapsus albolineatus* Lamarck) JANTAN

PIGMENT ANALYSIS AND *IN VITRO* ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ASTAXANTHINS FROM MALE CRAB (*Grapsus albolineatus* Lamarck)

Aswan Thamin^{*)}, Chairulwan Umar^{*)}, dan Darussadah Paransa^{**)}

Abstract

Grapsus albolineatus is one of marine crustaceans which have carotenoid (astaxanthin) pigment. This research was conducted to analyze carotenoids (astaxanthin) extracted from *G. albolineatus*, and evaluate their *in vitro* antibacterial activity. The research was done in March-July 2002. Samples were collected from Manado Gulf, North Sulawesi. The result indicated that the carapace contained 4 carotenoids namely β -caroten, ecinenon, astaxanthin diester, and astaxanthin monoester. In addition, the epidermis contained free astaxanthin. *In vitro* antibacterial activity test indicated that astaxanthin had low bacteriostatic activity against *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, and *Proteus stuartii*.

Key words: antibacterial activity, carotenoid, *Grapsus albolineatus*

Pengantar

Kepiting pantai berbatu (*Grapsus albolineatus*) merupakan salah satu biota laut golongan krustasea yang memiliki ciri khas unik, yaitu menampilkan bentuk tubuh dengan warna-warna yang cemerlang dan menarik. Pewarnaan ini disebabkan pigmen karotenoid (astaksantin) sebagai zat warna alami. Mantiri (1997) menyatakan bahwa pada krustasea pigmen berfungsi sebagai zat warna alami. Korompis (2001) melakukan penelitian tentang kandungan dan jenis pigmen pada organ dalam dan organ luar kepiting (*G. albolineatus*) betina dan menghasilkan 5 jenis pigmen karotenoid yaitu β -karoten, tipe ekinenon, tipe kantaksantin, tipe phoenikoksantin dan astaksantin bebas.

Pigmen karotenoid dalam bidang farmasi-tika berperan penting bagi kesehatan manusia, diantaranya berfungsi sebagai

antibakteri. Menurut Mantiri & Kepel (1999), pigmen karotenoid berperan penting bagi kesehatan manusia, sebagai provitamin A, antioksidan, dan antikanker. Mutschler (1991) menyatakan bahwa senyawa hasil hidrolisis pigmen karotenoid yang terdapat pada kepiting dapat menghasilkan vitamin E atau tokoferol.

Penelitian tentang organisme laut baik yang bernilai ekonomis penting maupun tidak, dilaporkan berpotensi memenuhi kebutuhan farmasi antara lain; Sponge (Tinangon, 1996), alga merah (*Kappaphycus striatum*) (Yusa, 2000), *Nypa fruticans*, bulu babi (*Echinus esculentus*), *Cypraea annulus* (Parauba, 2001), gastropoda *Shiponaria javanica* (Surwarjaya, 2002), moluska genus *Turbo* (Ksatrya, 2002), kepiting raja (*Carcinuscorpius rotundicauda*) (Banteng, 2001), kepiting bakau (*Scylla serrata*) (Roring, 2001), dan kepiting (*G. albolineatus*) (Korompis, 2001).

^{*)} Loka Riset Pemacuan Stok Ikan. Jl. Cilalawi No.1 Jatiluhur, Tlp: (0264) 231836 Fax: (0264) 208768 Purwakarta 41152

^{**)} Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi. Jl. Kampus UNSRAT Bahu Manado 95115, Tlp: (0431) 868027/862486 Fax: (0431) 868027

^{*)} Penulis untuk korespondensi: E-mail: aswan_lrpsi@yahoo.co.id.

Berdasarkan hasil pengamatan dan pengambilan sampel di lokasi penelitian, yang paling banyak dijumpai adalah kepiting (*G. albolineatus*) jantan dewasa yang memiliki warna tubuh lebih cemerlang dibandingkan kepiting betina. Penelitian yang telah dilakukan terhadap kepiting (*G. albolineatus*) secara umum untuk mengetahui kandungan dan jenis pigmen karotenoid (Korompis, 2001). Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian lanjutan mengenai jenis dan manfaat dari senyawa pigmen karotenoid yang terdapat pada kepiting (*G. albolineatus*) jantan sebagai antibakteri. Dalam penelitian Roring (2001) terhadap kepiting bakau (*S. serrata*) jantan, ditemukan jenis pigmen β -karoten dan zeaksantin ester memiliki aktivitas antibakteri terhadap 12 bakteri uji antara lain; *Edwardsiella tarda*, *Proteus stuartii*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella paratyphi A*. Sedangkan untuk pigmen astaksantin bebas memiliki aktivitas antibakteri hanya terhadap bakteri *Escherchia coli*.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis jenis pigmen dengan menentukan fraksi atau jenis pigmen yang terdapat pada kepiting (*G. albolineatus*) jantan dan melakukan uji aktivitas antibakteri dari beberapa jenis pigmen terhadap bakteri uji.

Bahan dan Metode

Pengumpulan sampel

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Juli 2002. Sampel kepiting (*G. albolineatus*) ditangkap dari lokasi timbunan batu pemecah ombak ditepi pantai Malalayang Dua, Teluk Manado Propinsi Sulawesi Utara menggunakan alat bantu pancing. Sampel yang diperoleh dimasukkan kedalam *Cool Box* yang diberi es. Identifikasi spesies berdasarkan Bliss (1982) dan Majchacheep (1989). Setiap individu diamati dan dipilih 3 kepiting jantan yang memiliki tahap fisiologis yang sama. Sampel dibedah untuk diambil karapas dan lapisan epidermisnya. Organ karapas direndam

dengan HCl selama 3 jam sebelum diekstraksi.

Analisis jenis pigmen

Ekstraksi

Masing-masing organ (3 g) digerus dan dicampurkan dengan 15 ml aseton, kemudian disaring. Hasil ekstrak ditambahkan 9 ml petroleum eter (PE) dan dibilas dengan 50 ml aquades. Supernatan pigmen dalam PE diendapkan sampai volume tertentu misalnya 20 ml (Mantiri, 1997). Pigmen total dari masing-masing organ selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer dengan kisaran panjang gelombang (λ) 380-550 nm.

Pemisahan jenis pigmen

Jenis pigmen karotenoid dari larutan ekstrak ditentukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) mengikuti metode Matsjeh (1999). Pelat silika gel berukuran 10 x 10 cm diaktifkan dalam oven bersuhu 60°C selama 24 jam dan didinginkan dengan desikator. Penotolan pigmen di atas pelat menggunakan pipet kapiler 1 μ l.

Pelat yang telah ditotol dimasukkan dalam bejana yang berisi larutan pengembang (PE:aseton = 95:5). Setelah pengembangan dan pigmen bermigrasi, ditentukan nilai Rf dan divisualisasi dengan menggambar jarak migrasi pigmen di atas plastik transparan. Setiap fraksi hasil KLT diisolasi dan dianalisis dengan spektrofotometer pada λ 380-550 nm, kemudian diidentifikasi jenis pigmennya berdasarkan Britton *et al.* (1995). Jenis pigmen pada organ karapas yang digunakan pada uji aktivitas anti-bakteri yaitu astaksantin diester dan astaksantin monoester, sedangkan pada lapisan epidermis yaitu astaksantin diester, astaksantin monoester, dan astaksantin bebas.

Uji aktivitas antibakteri in vitro

Bakteri diinokulasi pada medium nutrisi agar (Oxoid) miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri dipanen dan disuspensi dalam BHI (Oxoid) sampai kekeruhannya sama dengan standar Mc Farland (0,5 ml

BaCl₂·2H₂O 1,175 % dan 99,5 ml H₂SO₄ 0,36 N dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml). Mueller Hinton medium (Oxoid) dituang dalam cawan petri. Setelah mengeras dibuat sumuran dengan diameter 4 mm. Cawan petri tersebut diinokulasi dengan bakteri uji dengan cara lidi kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri kemudian digoreskan merata di seluruh bagian cawan petri.

Larutan uji (ekstrak) sebanyak 50 µl (3 N) diteteskan pada sumuran medium Mueller Hinton Agar (Oxoid) dalam cawan petri. Pada bagian yang lain ditempatkan antibiotika (3 N) sebagai pembanding. Sebagai kontrol negatif, dimasukkan pelarut (PE atau aseton) ke dalam sumur yang berbeda. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk disekitar lubang sumur diukur dan dibandingkan dengan zona terang yang dibentuk oleh antibiotika.

Hasil dan Pembahasan

Menurut Marten & Barnet (1993), *G. albolineatus* adalah spesies kepiting berwarna hitam kehijauan yang ditemukan di atas atau di bawah batu pantai. Kepiting ini berkaki panjang tanpa kaki renang, yang digunakan untuk bergerak dengan sangat cekatan di batu-batu yang terhempas ombak, dengan bentuk capit berukuran kecil (Nontji, 1987) (Gambar 1).

Berdasarkan pengamatan pada 10 kepiting jantan, ditemukan 3 kepiting memiliki tahap perkembangan gonad yang sama dengan berat segar masing-masing yaitu 45,83; 52,79 dan 66,29

gram. Ketiga kepiting tersebut memiliki gonad yang berbentuk bulat dengan satu titik hitam yang terdapat dalam lingkaran. Tahap perkembangan gonad ini berada pada tahap perkembangan embrio (Barnes *et al.*, 1988).

Perbedaan berat tubuh yang dimiliki setiap sampel (kepiting) tidak mempengaruhi senyawa pigmen, karena secara fisiologi ketiga sampel tersebut berada pada tahap fisiologi yang sama. Menurut Britton & Goodwin (1981), tahap perkembangan embrio yang sama tidak akan mempengaruhi kandungan pigmen pada krustasea.

Analisis jenis pigmen

Analisis spektrofotometer terhadap ekstrak pigmen total dalam PE pada organ karapas kepiting jantan menghasilkan ekstrak pigmen total karotenoid dengan serapan maksimum pada λ 454 dan 474 nm. Korompis (2001) melaporkan bahwa hasil spektrofotometer pigmen total pada organ karapas kepiting (*G. albolineatus*) betina memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 450 dan 472 nm.

Hasil ini membuktikan bahwa ada kesamaan antara ekstrak pigmen total karotenoid pada kepiting (*G. albolineatus*) jantan dan betina. Serapan spektrofotometer yang terbentuk menunjukkan ada beberapa jenis pigmen yang masih berkonyugasi, dimana ikatan esternya belum terputus. Menurut Packer (1992), karotenoid yang mengandung beberapa gugus hidroksi, dikenal sebagai karotenoid ester asam karboksilat yang dapat teresterifikasi dengan satu atau lebih asam lemak.



Gambar 1. Kepiting (*G. albolineatus* Lamarck) jantan

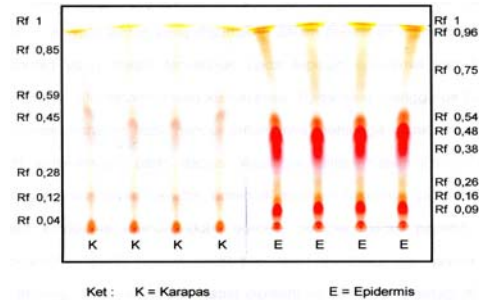
Analisis ekstrak pigmen total karotenoid pada lapisan epidermis membentuk serapan maksimum pada λ 461,7 nm. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Korompis (2001) pada kepiting (*G. albolineatus*) betina, yang mempunyai serapan maksimum pada λ 449 dan 472 nm dengan bentuk kurva yang memiliki dua puncak. Hal ini diduga disebabkan oleh bentuk sampel yang dianalisis. Sampel yang dianalisis dalam penelitian ini adalah lapisan epidermis, sedangkan dalam penelitian Korompis (2001) menggunakan sampel organ dalam yang terdiri dari gabungan organ hepatopankreas, hemosianin dan lapisan epidermis. Hasil ekstrak pigmen total karotenoid pada organ dalam lebih kental/pekat warnanya dari hasil ekstrak pigmen total karotenoid pada lapisan epidermis.

Hasil KLT ekstrak pigmen total dari karapas dan lapisan epidermis kepiting (*G. albolineatus*) jantan berhasil memisahkan jenis-jenis pigmen pada setiap fraksi (Gambar 2). Menurut Gross (1991), metode KLT merupakan teknik pemisahan yang baik untuk substansi kimia. Selanjutnya menurut Mastjeh (1999), KLT merupakan suatu teknik pemisahan komponen secara sederhana dan cepat dengan menggunakan kaca, plastik atau alumunium yang di atasnya dilapisi dengan absorbent berupa bubuk halus silika dengan ketebalan 0,1 - 0,25 mm.

Kromatogram menunjukkan migrasi pigmen karotenoid dari karapas menghasilkan 7 fraksi dan pada lapisan epidermis 9 fraksi dengan nilai Rf yang berbeda. Jenis pigmen dan jumlah fraksi yang lebih banyak dari ekstrak pigmen pada lapisan epidermis menunjukkan warna-warna yang lebih cemerlang dibandingkan pada organ karapas.

Perbedaan ini disebabkan oleh penggunaan sampel kepiting (*G. albolineatus*) jantan yang berada pada tahap post molting atau baru selesai mengalami pergantian kulit, sehingga pigmen karote-

noid masih tertumpuk pada lapisan epidermis dan belum sepenuhnya diformasikan ke karapas. Kasim (2000) dan Roring (2001) melaporkan bahwa pada kepiting bakau (*S. serrata*) jantan ditemukan pigmen karotenoid dengan kadar tinggi pada lapisan epidermis yang menunjukkan adanya pembentukan pigmen yang terkonsentrasi pada lapisan epidermis saat krustasea mengalami fase post molting.



Gambar 2. Kromatogram hasil Kromatografi Lapis Tipis

Jenis pigmen yang teridentifikasi pada organ karapas yaitu β -karoten, tipe ekinenon, astaksantin diester, dan astaksantin monoester. Sedangkan pada lapisan epidermis teridentifikasi jenis pigmen: β -karoten, tipe ekinenon, astaksantin diester, astaksantin monoester, dan astaksantin bebas (Tabel 1).

Castillo *et al. cit.* Britton & Goodwin (1981) mengemukakan bahwa krustasea pada umumnya memiliki pigmen karotenoid mayor yang sama, diantaranya adalah pigmen β -karoten, tipe ekinenon dan astaksantin. Menurut Britton & Goodwin (1981), pigmen astaksantin merupakan pigmen utama pada krustasea. Bliss & Mantel (1983) juga mengemukakan bahwa 90% jenis pigmen yang ditemukan pada karapas krustasea dekapoda *Pandalus borealis* dan *Penaeus japonicus* adalah pigmen astaksantin yang merupakan pigmen karakteristik dari krustasea.

Tabel 1. Hasil analisis KLT, nilai serapan maksimum dan jenis pigmen dari ekstrak pigmen total organ karapas dan lapisan epidermis Kepiting (*G. albolineatus* Lamarck) jantan

Bagian tubuh	Fraksi	Nilai Rf	Warna	Serapan maksimum pada λ (nm)	Jenis pigmen
Karapas	1	1	Kuning	425-447-474	β-karoten
	2	0,8	Kekuning-kuningan	-	Tidak teridentifikasi
	3	0,59	Oranye	450	Tipe Ekinenon
	4*	0,45	Merah	474,5	Astaksantin diester
	5	0,28	Kuning	468	Tidak teridentifikasi
	6*	0,12	Merah	473,2	Astaksantin monoester
	7	0,04	Merah	436-456-476	Tidak teridentifikasi
Lapisan epidermis	1	1	Kuning	425-447-474	β-karoten
	2	0,96	Kekuning-kuningan	-	Tidak teridentifikasi
	3	0,75	Oranye	462	Tipe Ekinenon
	4	0,54	Oranye kemerahan	463	Tidak teridentifikasi
	5*	0,48	Merah	473,2	Astaksantin diester
	6*	0,38	Merah	477	Astaksantin monoester
	7	0,26	Oranye	470	Tidak teridentifikasi
	8	0,16	Oranye kemerahan	466	Tidak teridentifikasi
	9*	0,09	Merah	474	Astaksantin bebas

Keterangan: *, Fraksi dari jenis pigmen yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri *in vitro*

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa, larutan uji jenis pigmen astaksantin dari karapas dan lapisan epidermis kepiting (*G. albolineatus*) jantan memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Astaksantin diester dan astaksantin monoester dari karapas memiliki kisaran diameter zona hambat 7-30 mm dan 7-14 mm terhadap 11 bakteri uji, kecuali pada

bakteri *Proteus mirabilis*, *Salmonella paratyphy* B, *Klebsiella pneumoniae* dan *Shigella dysentriae* (Tabel 2). Astaksantin diester dari epidermis memiliki zona hambat 7-15 mm terhadap 13 bakteri uji, jenis pigmen astaksantin monoester memiliki zona hambat 6-11 mm terhadap 6 bakteri uji, dan jenis pigmen astaksantin bebas memiliki zona hambat 10-21 mm terhadap 14 bakteri uji.

Tabel 2. Rata-rata diameter zona hambat (mm) pigmen astaksantin terhadap 15 bakteri uji

Bakteri uji	Rata-rata Φ zona hambat (mm)					Rata-rata Φ zona hambat antibiotika pembeding (mm)	
	K ₄	K ₆	E ₅	E ₆	E ₉	Sf	Ts
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	10	12	6	12	32	33
<i>Proteus mirabilis</i>	4	4	14	4	4	25	-
<i>Salmonella paratyphy</i> A	23	13	4	8	14	29	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	9	8	13	11	18	28	32
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	14	8	11	21	30	34
<i>Salmonella paratyphy</i> B	4	9	8	4	13	27	-
<i>Escerichia coli</i>	9	6	8	4	15	30	-
<i>Proteus stuartii</i>	18	6	15	8	10	38	35
<i>Vibrio cholerae non aglutinas</i>	7	7	7	4	15	29	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	4	7	6	12	35	-
<i>Shigella dysentriae</i>	4	4	4	4	12	29	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	19	14	10	4	10	30	-
<i>Aeromonas hydrophyla</i>	30	12	8	4	12	28	-
<i>Edwardsiella tarda</i>	14	9	12	4	14	32	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	11	9	13	4	10	40	-

Keterangan: K₄, Astaksantin diester dari karapas; K₆, Astaksantin monoester dari karapas; E₅, Astaksantin diester dari epidermis; E₆, Astaksantin monoester dari epidermis; E₉, Astaksantin bebas dari epidermis; Sf, Siprofloksasin; Ts, Tetrasiklin; Zona hambat 4 mm berarti tidak ada aktivitas antibakteri.

Terao *cit.* Packer (1992) menjelaskan bahwa pigmen astaksantin bisa berperan sebagai antioksidan, bahkan astaksantin dan kataksantin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan pigmen-pigmen lain seperti α -karoten, zeaksantin dan isozeaksantin. Kemampuan pigmen astaksantin dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji berhubungan juga dengan peranannya sebagai antioksidan.

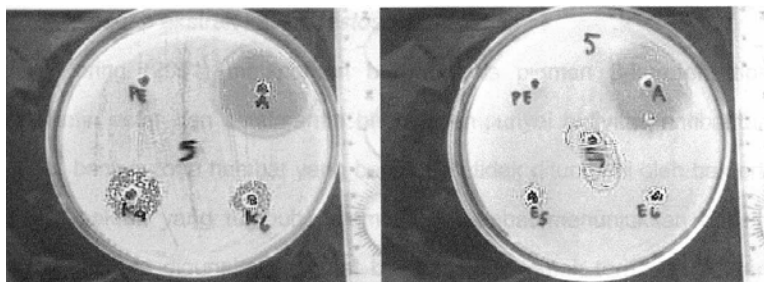
Hasil ini jika dibandingkan dengan penelitian Roring (2001) jenis pigmen astaksantin dari ekstrak pigmen karotenoid kepiting (*S. serrata*) jantan tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (zona hambat) terhadap 14 bakteri uji, kecuali pada bakteri *E. coli*.

Zona hambat yang terbentuk dari hasil uji jenis pigmen astaksantin terhadap 15 bakteri uji memperlihatkan masih terdapat koloni-koloni bakteri yang mampu bertahan hidup di dalam zona terang yang terlihat seperti titik-titik (Gambar 3).

Kemampuan bakteri untuk bertahan hidup terhadap larutan uji tergantung pada bahan uji, resistensi, konsentrasi, sifat gram bakteri dan lain-lain. Hal ini

dibuktikan dengan tidak ditemukannya aktivitas antibakteri dari ekstrak kasar spons (*Callyspongia* sp.) terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *E. cloacae* dan *S. aureus* (Korompis, 1998). Hal yang sama dijumpai pada penelitian Pantauw (1998) terhadap ekstrak kasar *Xestospongia* sp.

Roring (2001) melaporkan bahwa jenis pigmen β -karoten, tipe zeaksantin ester dan astaksantin bebas mempunyai aktivitas antibakteri dengan bentuk zona hambat yang bersih (tidak ditumbuhi oleh bakteri). Bakteri yang tumbuh dalam zona hambat menunjukkan bahwa larutan uji yang digunakan memiliki daya hambat yang lemah selama masa inkubasi dengan ciri-ciri; bakteri tidak dimatikan setelah berhubungan dengan larutan uji, dan zona hambat yang terbentuk tidak bersih (masih ditumbuhi bakteri). Senyawa yang bersifat bakteriostatik lemah memiliki daya hambat yang lemah terhadap pertumbuhan bakteri (Ganiswarna *et al.*, 1995). Menurut Jawetz *et al.* (1996), setelah berhubungan dengan senyawa antibakteri, bakteri tidak dimatikan tetapi hanya dihambat pertumbuhannya selama masa pengeraman.



Keterangan: PE, Petroleum Eter; A, Antibiotik pembanding; (Siprofloksasin/Tetrasiklin); 5, Bakteri uji 5 *S. aureus*; K₄, Fraksi 4 karapas jenis pigmen astaksantin diester; K₆, Fraksi 6 karapas jenis pigmen astaksantin monoester; E₅, Fraksi 5 epidermis jenis pigmen astaksantin diester; E₆, Fraksi 6 epidermis jenis pigmen astaksantin monoester; E₉, Fraksi 9 epidermis jenis pigmen astaksantin bebas

Gambar 3. Bentuk zona hambat hasil uji aktivitas antibakteri

Pengukuran zona hambat yang dihasilkan antibiotika pembeding (siprofloksasin dan tetrasiklin) lebih besar daripada larutan uji yang digunakan (Gambar 3). Menurut Subari *et. al.* (1994) *cit.* Banteng (2001), siprofloksasin dan tetrasiklin merupakan antibiotik dengan spektrum luas, yaitu antibiotika yang aktif terhadap banyak jenis bakteri, virus dan protozoa.

Petroleum Eter (PE) sebagai larutan kontrol dari sampel uji tidak mempengaruhi aktivitas pigmen sebagai zat utama dalam uji aktivitas antibakteri, karena tidak menghasilkan zona hambat (Gambar 3).

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

1. Jenis pigmen yang terdapat pada organ karapas dan lapisan epidermis kepiting pantai berbatu (*G. albolineatus* Lamarck) jantan adalah β -karoten, tipe ekinonon, astaksantin diester, astaksantin monoester, astaksantin bebas, dan pigmen yang belum teridentifikasi.
2. Jenis pigmen astaksantin diester, astaksantin monoester dan astaksantin bebas memiliki aktivitas sebagai antibakteri yang bersifat bakteriostatik.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang nilai konsentrasi, nilai kuantitas dan pemurnian lebih lanjut terhadap jenis pigmen karotenoid untuk uji aktivitas antibakteri.

Daftar Pustaka

Banteng, M. 2001. Uji aktivitas antibakteri pada Kepiting Raja *Carcinus scopius rotundicauda* (Latreille). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam ratulangi. Manado. 42 p.

Barnes, R.S.K., P. Calow, and P.J.W. Olive. 1988. The invertebrates : a

new synthesis. Blackwell Scientific Publications. Oxford. 589 p.

Bliss, D. and L. Mantel. 1983. The biology of crustacea. Internal anatomy and physiology regulation. Vol 5. Academic Press. New York. 199 p.

Bliss, D.E. 1982. Systematics, the fossil record and biogeography. *In*: The biology of crustacea. D.E. Bliss (Ed.). Volume 1. Academic Press inc. New York. 198 p.

Britton, G. and T.W. Goodwin. 1981. Carotenoid chemistry and biochemistry. Pergamon Press. University of Liverpool United Kingdom. 215 p.

Britton, G., S.L. Jansen, and H. Pfander. 1995. Carotenoids. Vol IB, Spectroscopy. Academic Press inc. Basel. 386 p.

Ganiswarna, S.G., R. Setiabudy, F.D. Suyatna, Purwastyastuti, dan Nafrialdi. 1995. Farmakologi dan terapi. Edisi IV. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta. 154 p.

Gross, J. 1991. Pigments in vegetables. Chlorophylls and carotenoids. Van Nostrand Reinhold. New York. 86 p.

Jawetz, E., J.L. Melnick, dan E.A. Adelberg. 1996. Mikrobiologi kedokteran. Edisi 20. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 143 p.

Kasim, S.A. 2000. Penentuan kandungan dan jenis pigmen karotenoid pada Kepiting Bakau (*Scylla serrata*; Forskal 1775) jantan dari Perairan Likupang. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 49 p.

Korompis, J.L.H. 1998. Identifikasi antimikroba pada *Callyspongia* sp. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu

- Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 35 p.
- Korompis, F.A. 2001. Penentuan kandungan pigmen karotenoid pada Kepiting *Garapsus albolineatus* (Lamarck) betina berdasarkan beda larutan pengembang pada kromatografi lapis tipis. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 54 p.
- Ksatrya, S.P. 2002. Aktivitas antispasme bronkus dari ekstrak moluska genus *Turbo* yang diujikan pada Tikus (*Rattus norvegicus*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 45 p.
- Majchacheep, S. 1989. Marine animals of Thailand. Prae Pittaya. Bangkok. 453 p.
- Mantiri, D.H.M. 1997. Nature, localization et metabolisme des carotenoides et des complexes carotenoproteiques au Cours de levolution embryonnaire et lavaire du Hommarid European *Homarus gammarus* (Linne 1758). These. Universite De Droit, D'Economie et des Sciences D'Aix Marseille. Faculte des Sciences et Techniques de Saint Gerome. 115 p.
- Mantiri, D.H.M. dan B. Kepel. 1999. Beberapa peran pigmen karotenoid. Jurnal Fakultas Perikanan. 1 (3): 139-147.
- Marten, P. and I. Barnnet. 1993. A coral reef hand book: a guide to the geology, flora and fauna of the Great Barrier Reef. Surrey Beatty Sons Pty Limited. Sydney. 327 p.
- Mastjeh, S. 1999. TLC (Thin Layer Chromatography). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 30 p.
- Mutschler, E. 1991. Arzneimittelwirkugen (Dinamika obat. Edisi ke-5, diterjemahkan oleh W. Mathilda dan A.S. Rantio). ITB. Bandung. 299 p.
- Nontji, A. 1987. Laut Nusantara. Cetakan kedua. PT. Djambatan. Jakarta. 367 p.
- Packer, L. 1992. Carotenoids. Part A *In: Methods in Enzimology*. Volume 213. Academic Press inc. California. 538 p.
- Pantauw, L.C. 1998. Identifikasi antimikroba pada *Xestospongis sp.* Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 35 p.
- Parauba, J. 2001. Studi etnofarmakologi di Kepulauan Talaud dari aspek biota laut. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 31 p.
- Roring, Y.I.V. 2001. Uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* dari ekstrak 3 jenis pigmen karotenoid pada karapas dan lapisan epidermis Kepiting Bakau *Scylla serrata* (Forsk., 1775) jantan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 49 p.
- Surwarjaya, R. 2002. Ekstraksi antibakteri pada gastropoda; *Siphonaria javanica* (Lamarck. 1819). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 45 p.
- Tinangon, M. 1996. Studi tentang aktivitas antibakteri beberapa jenis spongs dari Perairan Sulawesi Selatan dan Pulau Pari. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi. Manado. 35 p.
- Yusa, I.K.S.A. 2000. Telaah kandungan pigmen selama pertumbuhan Alga

Merah *Kappaphycus striatum*
(Schmitz) Doty dari Perairan Pesisir
Pulau Nain sebagai bahan
farmasitika. Skripsi. Fakultas

Perikanan dan Ilmu Kelautan.
Universitas Sam Ratulangi. Manado.
53 p.