

PEMISAHAN JENIS PIGMEN KAROTENOID DARI KEPITING *Grapsus* sp JANTAN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI KOLOM

(*Separation Types of Carotenoid Pigment From Male Crab of Grapsus sp. Using Column Chromatography Method*)

Anisa E.T. Silaa¹, Darus Sa'adah J. Paransa^{1*}, Antonius P. Rumengan¹,
Kurniati Kemer¹, Natalie D. C. Rumampuk¹, Hengky Manoppo²

1. Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

2. Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

*Corresponding author : Darus Saadah J. Paransa, email : darusparansa@unsrat.ac.id

Abstract

Grapsus sp crab has a greenish black body color and also known as stone crab. Crabs in the genus *Grapsus* sp have a swift movement, long legs, they do not have swimming legs and have small reddish purple or purple-orange color, claws on the body of this crab indicated the presence of pigments such as carotenoid pigments. Carotenoid pigments are one form of secondary metabolites which consist of carotene and xanthophyll groups. Carotenoid pigments are present in yellow, orange or orange red which are also found in crabs. Separation of carotenoid pigments can be done using the TLC method, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Column Chromatography (CC). The purpose of this study was to determine the type of carotenoid pigment from male *Grapsus* sp crab extract using the Column Chromatography separation method. From the results of this study, the carotenoid pigment content in the 1,2 and 3 carapace was 46,85 μg , 39 μg , and 33,14 μg . The carotenoid pigment concentrations in carapace extracts 1,2 and 3 are 25,38 $\mu\text{g/g}$, 23,4 $\mu\text{g/g}$ and 5,11 $\mu\text{g/g}$. From the results of the separation using the column chromatography method, the type of carotenoid pigment identified from the carapace extract of *Grapsus* sp male is β -Carotene, Ekinenon, Astaxantine, Kantaxantine and Astacen.

Keywords: *Grapsus* sp, Carotenoid, Column Chromatography

Abstrak

Kepiting *Grapsus* sp memiliki warna tubuh hitam kehijauan dan dikenal dengan nama kepiting batu. Kepiting dalam genus *Grapsus* sp memiliki gerakan yang cekatan, mempunyai kaki yang panjang, tidak memiliki kaki renang dan memiliki capit berukuran kecil yang berwarna ungu kemerahan atau ungu-oranye warna pada tubuh kepiting ini mengindikasikan adanya kandungan pigmen seperti pigmen karotenoid. Pigmen karotenoid merupakan salah satu bentuk metabolit sekunder yang yang terdiri dari golongan karoten dan xantofil. Pigmen karotenoid hadir dalam warna kuning, oranye, atau merah oranye, yang juga ditemukan pada kepiting. Pemisahan pigmen karotenoid dapat dilakukan dengan menggunakan metode KLT, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Kromatografi Kolom (KK). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis pigmen karotenoid dari ekstrak kepiting *Grapsus* sp Jantan dengan menggunakan metode pemisahan Kromatografi Kolom. Dari hasil penelitian ini, didapatkan kandungan pigmen karotenoid pada karapas 1,2 dan 3 adalah 46,85 μg 39 μg , dan 33,14 μg . Konsentrasi pigmen karotenoid pada ekstrak karapas 1,2 dan 3 adalah 25,38 $\mu\text{g/g}$, 23,4 $\mu\text{g/g}$ dan 5,11 $\mu\text{g/g}$. Hasil pemisahan menggunakan metode pemisahan kromatografi kolom didapatkan ekstrak karapas kepiting *Grapsus* sp jantan memiliki jenis pigmen β -Karoten, Ekinenon, Astaxantin, Kantaxantin dan Astasen.

Kata kunci: *Grapsus* sp, Karotenoid, Kromatografi Kolom,

PENDAHULUAN

Krustasea merupakan salah satu kelas terbesar dari filum Arthropoda. Kepiting adalah salah satu organisme yang termasuk kedalam kelas Krustasea. Karapas krustasea memiliki ciri khas warna yang menarik dan dalam siklus hidupnya dapat melakukan pergantian kulit atau molting (Bliss, 1982). Warna yang menarik mengindikasikan adanya kandungan pigmen karotenoid. Pigmen karotenoid merupakan salah satu bentuk metabolit sekunder yang terdiri dari golongan karoten dan xantofil. Pigmen karotenoid hadir dalam warna kuning, oranye, atau merah oranye, yang ditemukan pada kepiting (Rodriguez-Amaya dan Kimura, 2004). Menurut Packer (1992) pigmen karotenoid tidak dapat disintesis secara *de novo* oleh kepiting dan proses sintesis pigmen karotenoid diperoleh melalui makanannya. Selanjutnya menurut Robbert and Barnes (1985), salah satu fungsi pigmen karotenoid berpengaruh pada pertumbuhannya melalui proses molting. Molting pada krustasea adalah proses pergantian cangkang, yang terjadi karena pertumbuhan daging yang bertambah besar sedangkan cangkang krustasea tidak ikut bertumbuh karena bersifat kaku. Tahapan molting berpengaruh pada pertumbuhan kepiting sehingga kepiting memiliki bentuk tubuh, ukuran dan warna pada karapas yang berbeda tergantung pada jenisnya (Skinner and Kumari, 1992). Salah satu contoh spesies yang masuk ke dalam kelompok kepiting adalah *Grapsus* sp (Poore, 2004).

Grapsus sp. memiliki warna tubuh hitam kehijauan dan dikenal dengan nama kepiting batu. Kepiting dalam genus *Grapsus* sp memiliki gerakan yang cekatan, mempunyai kaki yang panjang, tidak memiliki kaki renang dan memiliki capit berukuran kecil yang berwarna ungu kemerahan atau ungu-oranye (Poupin and Juncker, 2010). Menurut Majchaceep, (1989) *Grapsus* sp memiliki ciri pada warna capitnya yaitu berwarna ungu-oranye).

Krustasea memiliki pigmen karotenoid yang terdapat pada lapisan epidermis dan karapas krustasea adalah

pigmen astaksantin (Mantiri dan Kepel, 1999). Pemisahan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan beda larutan pengembang dari ekstrak pigmen total *Grapsus albolineatus* betina, ditemukan jenis pigmen yang berbeda. Penelitian Abdullah *dkk* (2018), jenis pigmen karotenoid seperti β -karoten, β -kriptoksantin, astaksantin dan astasen yang terkandung pada kepiting *Grapsus albolineatus* betina dipisahkan menggunakan metode KLT.

Pemisahan pigmen karotenoid dapat dilakukan dengan menggunakan metode KLT, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Kromatografi Kolom (KK) (Bintang, 2010). Hasil penelitian Zeak *dkk* (2019), pemisahan menggunakan Kromatografi Kolom dari ekstrak pigmen total karapas kepiting *Grapsus* sp teridentifikasi 3 jenis pigmen yaitu ekinenon, kantaxantin, dan astaxantin

Stahl (1985), menyatakan bahwa prinsip dari kromatografi kolom adalah adanya perbedaan daya serap dari masing-masing komponen yang akan diuji. Sampel dilarutkan dalam pelarut kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi melalui puncak kolom dan larutan tersebut mengalir ke dalam fase diam yang kemudian bermigrasi ke bawah sambil terjadi pemisahan.

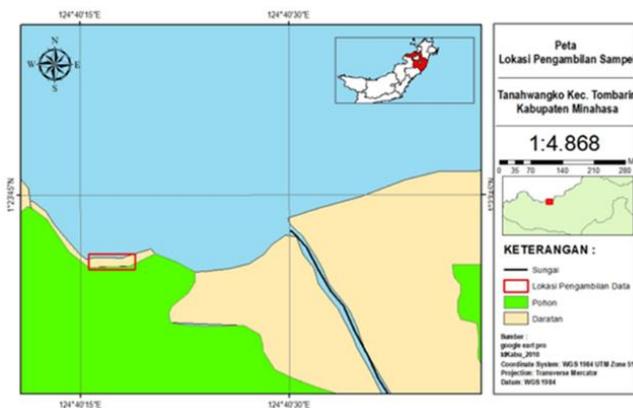
Vilchez (2011) mengkonfirmasi manfaat karotenoid (lutein, β -karoten, kantaxantin dan zeaxanthin) bagi kesehatan manusia, dimana manfaat karotenoid yang paling terkait adalah sifat antioksidannya untuk mekanisme respons anti-inflamasi, antikanker, antibakteri, dan sebagai pro vitamin A.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Pada penelitian ini pengambilan sampel diambil dari lokasi pesisir pantai Desa Ranowanko Kecamatan Tombariri Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara. Sampel kepiting ditangkap pada malam hari menggunakan tangan dengan alat bantu berupa senter untuk penerangan dan sarung tangan untuk melindungi

tangan. Pengambilan sampel dilakukan pada minggu terakhir bulan Maret 2019, sedangkan untuk tahap ekstraksi sampel dilakukan pada awal bulan April 2019 di



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

Sumber : Google Earth Pro

Penanganan Sampel

Sampel kepiting yang berhasil ditangkap dimasukkan ke dalam wadah yang telah berisi sedikit air laut, selanjutnya sampel kepiting dibawa ke Laboratorium Teknologi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT untuk dilakukan tahap identifikasi menggunakan petunjuk dari Majchacheep (1989) dan Poupin and Juncker (2010). Kepiting *Grapsus* sp jantan kemudian dibersihkan dan dibedah untuk mendapatkan organ karapas yang akan digunakan dalam penelitian.

Analisis Stadium Molting

Bagian uropoda dipotong tipis dan diletakkan diatas kaca preparat selanjutnya diamati di bawah mikroskop Olympus tipe CX-41 dengan pembesaran 20 x untuk menentukan tahapan stadium molting. Selanjutnya hasil pengamatan dibandingkan dengan Skinner (1962); Skinner and Kumari (1992).

Tahapan Ekstraksi

Organ karapas yang telah dipisahkan ditimbang menggunakan timbangan analitik kemudian direndam menggunakan HCL 2N selama 3-5 menit untuk melunakkan karapas dan

memisahkan senyawa kitin dan karotenoprotein yang terkandung dalam karapas. Tahap selanjutnya, karapas digerus menggunakan lumpang dan alu selama penggerusan ditambahkan larutan aseton sebanyak 15 ml yang ditambahkan secara bertahap. Setelah itu hasil ekstrak dimasukkan ke dalam labu pemisah yang sudah ada kertas saring pada bagian atasnya kemudian ditambahkan larutan Heksan sebanyak 25 ml selanjutnya dikocok kemudian ekstrak pigmen total karapas ditampung ke dalam botol.

Pemisahan Ekstrak Pigmen Total Menggunakan Kromatografi Kolom

Pada penelitian ini digunakan metode kering, dengan tahapan sebagai berikut: Media kolom kromatografi dimasukkan kapas dengan ukuran kecil yang diletakkan di bawah media kolom agar bubuk silika tidak keluar dari kolom. Bubuk silika dipanaskan dalam oven kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi sebagai fase diam dan larutan pengembang sebagai fase gerak. Bubuk silika di dalam kolom kromatografi dibasahi dengan larutan pengembang Heksan dan Aseton sebagai fase gerak yang bertujuan.

Setelah bubuk silika dibasahi dengan larutan pengembang kemudian ekstrak pigmen total sampel karapas dimasukkan pada permukaan kolom kromatografi menggunakan pipet tetes. Selama pemisahan pigmen kerotenoid berlangsung basahi bubuk silika dibasahi terus dengan larutan pengembang. Hasil pemisahan tersebut membentuk disebut fraksi-fraksi. Masing masing fraksi ditampung kedalam botol sampel dan dilanjutkan dengan penentuan serapan maksimum spektrofotometer UV-Vis diantara panjang gelombang 380-550 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi Sampel

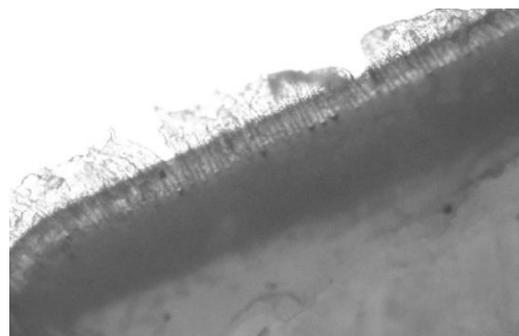


Gambar 2. Sampel *Grapsus* sp
Sumber : Dokumen Pribadi

Sampel yang diambil teridentifikasi sebagai kepiting *Grapsus* sp. Kepiting *Grapsus* sp banyak ditemukan di teluk Manado pada daerah pantai berbatu. Berdasarkan hasil penelitian Paransa dkk, (2019) salah satu spesies yang teridentifikasi hidup di pantai teluk Manado adalah spesies *Grapsus albolineatus* Latreille in Milbert, 1812 yang identifikasi melalui bentuk morfologi dan DNA. Menurut petunjuk Majchacheep (1989) *Grapsus* sp memiliki ciri-ciri sebagai berikut : Memiliki sepasang capit kecil berwarna keunguan, pada bagian dorsal karapas memiliki garis linier berwarna hijau kehitaman, dan memiliki bulatan berwarna oranye pada bagian tengahnya. Memiliki 4 pasang kaki jalan yang panjang tanpa kaki renang dan pasangan kaki jalan pertama paling pendek diantara yang lainnya, serta memiliki bulu-bulu yang melekat pada parapodia. Pasangan kakinya bercorak bulatan tidak teratur dan berwarna hijau kehijauan-oranye kecoklatan dan terdapat bintikan berwarna oranye pada bagian kaki. Sampel kepiting berkelamin jantan pada bagian abdomennya yang segitiga meruncing.

Hasil Analisis Stadium Molting

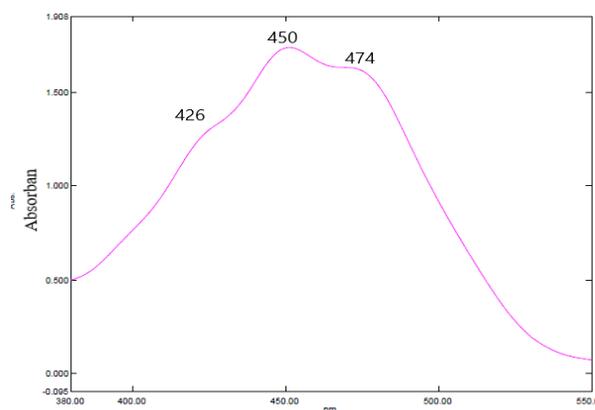
Sampel yang digunakan adalah sebanyak 3 sampel yang berada pada stadium molting yang sama yaitu pada stadium molting C 1



Gambar 3. Stadium Molting C1 Kepiting *Grapsus* sp Jantan

Hasil Kandungan Pigmen Dan Konsentrasi Pigmen Total

Serapan spektrofotometer UV-Vis diantara panjang gelombang 380 – 550 nm pada ekstrak pigmen total membentuk puncak serapan seperti yang tampak pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektogram Ekstrak Pigmen Total Karapas Kepiting *Grapsus* sp

Bentuk spektogram dari pigmen total karapas kepiting *Grapsus* sp. (Gambar 4) memiliki tiga puncak gelombang dengan serapan maksimum spektrofotometer 426, 450 dan 474 nm. Berdasarkan puncak serapan maksimum spektrofotometer UV-Vis pada ekstrak pigmen total organ karapas kepiting *Grapsus* sp dapat ditentukan nilai kandungan (Q) dan konsentrasi pigmen (C) berdasarkan rumus matetamtis Britton et.al (1995) seperti yang tampak pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Kandungan Dan Konsentrasi Pigmen Pada Sampel Kepiting *Grapsus* sp Jantan.

Sampel	Konsentrasi Pigmen (C) / $\mu\text{g}/\text{gr}$ berat residu kering	Kandungan Pigmen (Q)/(μg)
Karapas 1	25,38	46,85
Karapas 2	23,4	39
Karapas 3	5,11	33,14

Konsentrasi ekstrak pigmen total tertinggi pada masing-masing karapas kepiting *Grapsus* sp ada pada sampel karapas 1 dengan total konsentrasi 25,38 $\mu\text{g}/\text{gr}$ selanjutnya diikuti sampel karapas 2 dan sampel karapas ke 3.

Kandungan pigmen total tertinggi dari masing-masing karapas kepiting *Grapsus* sp ada pada sampel karapas 1 dengan nilai 46,85 μg , diikuti sampel karapas ke-2 dan sampel karapas ke-3. Pada sampel karapas 3 nilai konsentrasi dan kandungan pigmennya lebih rendah dari sampel karapas 1 dan 2 hal ini diasumsikan pigmen karotenoid terkonsentrasi pada organ lain. Menurut Poore (2004), pigmen karotenoid pada krustasea terdapat pada organ karapas, lapisan epidermis, hepatopankreas, hemosianin dan gonad. Pada penelitian ini, konsentrasi dan kandungan pigmen karotenoid pada ekstrak pigmen total karapas kepiting *Grapsus* sp menunjukkan adanya perbedaan konsentrasi pigmen. Menurut Moaka (2011), perbedaan konsentrasi karapas diduga karena dipengaruhi oleh makanan, metabolisme pigmen karotenoid pada

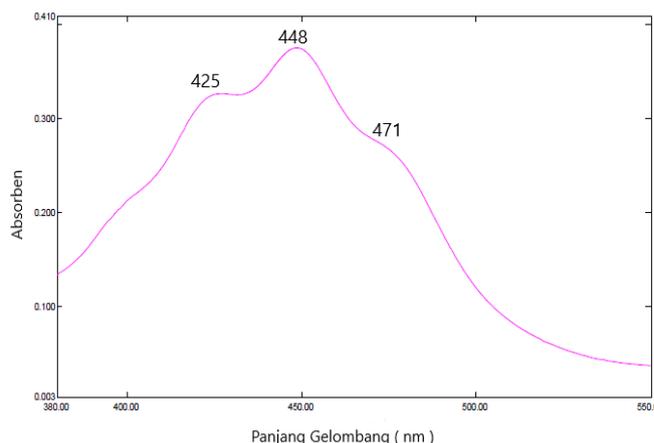
krustasea diperoleh melalui makanannya.

Hasil Pemisahan Ekstrak Pigmen Total Karapas Menggunakan Kromatografi Kolom

Dari hasil pemisahan menggunakan kromatografi kolom, berhasil didapatkan 5 fraksi yang ditampilkan pada Tabel 2.

Fraksi 1

Fraksi 1 terbentuk tiga puncak gelombang dengan pucak serapan spektrofotometer pada panjang gelombang 425, 448, 471 nm dan menghasilkan warna kuning. Menurut Britton *et al* (1995) pigmen dengan tiga puncak serapan tersebut teridentifikasi sebagai pigmen β -Karoten. Pigmen karoten mayor pada krustasea adalah pigmen β -Karoten



Gambar 5. Spektrogram Pigmen Jenis β -Karoten

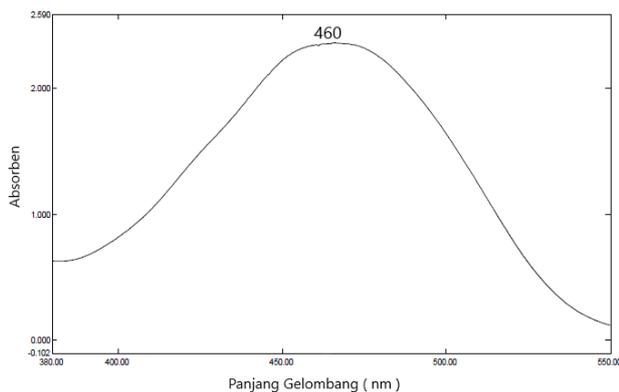
Tabel 2. Jenis Pigmen Hasil Pemisahan Dengan Kromatografi Kolom

FRAKSI	WARNA	PANJANG GELOMBANG (nm)	JENIS PIGMEN
1	Kuning	425, 448, 471	β -karoten
2	Oranye pekat	460	Ekinenon
3	Kuning	470	Astaxantin
4	Oranye	465	Kantaxantin
5	Oranye	471	Astasen

Maoka (2011) menyatakan metabolisme awal pada krustasea sering diawali dengan pembentukan pigmen β -karoten.

Fraksi 2

Fraksi 2 berwarna oranye pekat dan membentuk satu puncak serapan spektrofotometer pada panjang gelombang 460 nm. Menurut Britton *et al* (1995), pigmen tersebut teridentifikasi sebagai pigmen Ekinenon. Hasil enelitian Paransa *dkk*, (2002) kepiting *G. albolineatus* betina yang ditangkap di daerah perbatasan Kalasey-Manado juga ditemukan pigmen ekinenon yang dipisahkan menggunakan larutan pengembang PE dan Aseton dengan perbandingan 80:20 menggunakan kromatografi Lapis Tipis. Hasil spektrogram fraksi 2 tampak pada Gambar 6.

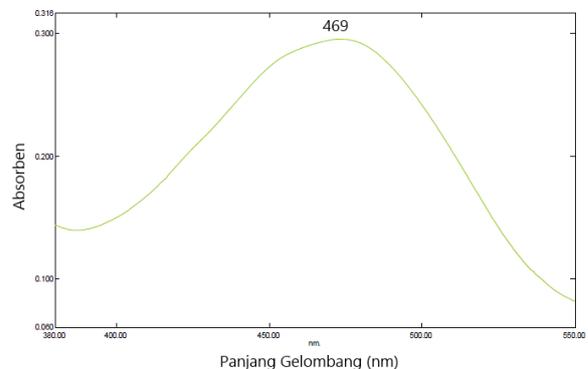


Gambar 6. Spektrogram Jenis Pigmen Ekinenon

Fraksi 3

Fraksi 3 berwarna kuning dan membentuk satu puncak serapan maksimum spektrofotometer dengan panjang gelombang 469 nm. Menurut Britton *et al* (1995) bahwa serapan maksimum panjang gelombang pada 469 nm teridentifikasi sebagai pigmen astaxantin. Ruppert dan Barnes (1994) menyatakan bahwa pigmen astaxantin merupakan salah satu pigmen mayor yang ada pada krustasea, Astaxantin juga merupakan salah satu jenis pigmen karoten utama yang dapat ditemukan

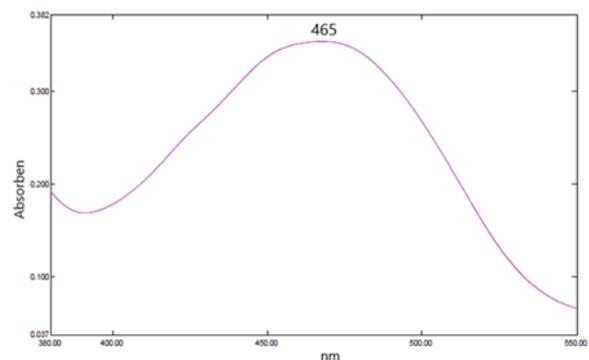
pada karapas kepiting khususnya *Grapsus* sp. Hasil spektrogram dari fraksi 3 tampak pada Gambar 7.



Gambar 7. Spektrogram Pigmen Astaxantin

Fraksi 4

Fraksi 4 membentuk satu puncak serapan maksimum spektrofotometer pada panjang gelombang 465 nm dan berwarna oranye. Menurut Britton *et al*. (1995) pigmen ini teridentifikasi sebagai pigmen jenis kantaxantin (Gambar). Menurut Paransa *dkk* (2002), pigmen kantaxantin bermigrasi dibawah pigmen ekinenon pada hasil pemisahan Kromatografi Lapis Tipis. Pada penelitian ini pigmen kantaxanthin juga bermigrasi di bawah pigmen astaxantin dengan pemisahan menggunakan Kolom Kromatografi. Hasil spektrogram fraksi 4 ditampilkan pada Gambar 8.

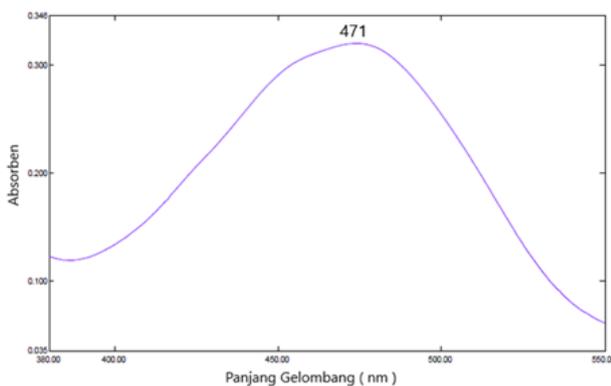


Gambar 8. Spektrogram Pigmen Jenis Kantaxantin

Fraksi 5

Fraksi 5 dengan warna oranye terbentuk satu puncak serapan

spektrofotometer pada panjang gelombang 471 nm. Menurut Britton *et al* (1995) pigmen pada panjang gelombang ini teridentifikasi sebagai pigmen jenis astasen. Hasil penelitian Makalalag (2017) jenis pigmen ini ditemukan pada fraksi ke 3 dengan puncak serapan spektrofotometer pada panjang gelombang 475 nm menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis. Serapan maksimum spektrofotometer dari pita 5 tampak pada Gambar 9.



Gambar 9. Spektrogram Pigmen Jenis Astasen

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut: Kandungan pigmen karotenoid pada karapas 1,2 dan 3 adalah 46,85 µg 39 µg, dan 33,14 µg. Konsentrasi pigmen karotenoid pada ekstrak karapas 1,2 dan 3 adalah 25,38 µg/g, 23,4 µg/g dan 5,11 µg/g. Dari hasil pemisahan menggunakan metode kromatografi kolom jenis pigmen yang teridentifikasi dari ekstrak karapas kepiting *Grapsus* sp jantan adalah β-Karoten, Ekinenon, Astaxantin, Kantaxantin dan Astasen

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, M.R.A., D.S.J. Paransa, D.M.H. Mantiri, E.D. Angkow. P.A. Angmalisang, J.D. Mudeng. 2018. Distribusi Pigmen Karotenoid pada kepiting *Grapsus* sp dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. Volume 2 No.1. Hal 19-25

Bliss, D.E. and L. H. Mantel. 1985. Integument, Pigments, and

Hormonal Processes. Vol 9, New York. America. Hal 45-48.

Bintang, M. 2010. Biokimia - Teknik Penelitian. Penerbit Erlangga. Bogor. 256 Hal

Britton, G., S.L. Jansen and H. Pfander. 1996. Carotenoids. Volume 2. Synthesis. Basel, Switzerland.

Majchacheep, S. 1989. *Marine Animal Of Thailand*. Published By Prae Pittaya. Thailand.

Makalalag, S., Paransa J.S.D., Mantiri, D.M.H. 2017. Penentuan Kandungan Pigmen Karotenoid pada Kepiting *Grapsus albolineatus* (Lamarck) Betina dari Perairan Pesisir Pantai Desa Tanawangko. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 3 (1) : 1-9.

Mantiri, D.H.M., dan B. Kepel. 1999. Beberapa Peranan Pigmen Karotenoid. *Jurnal Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan*. Volume 1 No. 3 Oktober 1999 Perairan pesisir Pantai Tanawangko. *Jurnal pesisir dan Laut Tropis*, 3 (1) :1-9

Maoka, T. 2011. Carotenoids in Marine Animals. Review. *Jurnal Research Institute for Production Development*. J.Marine Drugs. ISSN 1660-3397 – 9. Japan. Hal 278-293.

Paransa, D.S.J., Mantiri, D.H.M. Korompis, F. 2002. Penentuan Kandungan Pigmen Karotenoid Pada Kepiting *Grapsus albolineatus* Betina Berdasarkan Beda Larutan Pengembang Pada Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Perikanan Dan Ilmu Kelautan*. Hal 1-10. Vol 1. No. 3. 2002.

Paransa D. S. J., Mantiri D. M. H., Lumenta C., Ompi M., Pratasik S. B., 2019 Morphological and genetic characteristics of lightfoot crab *Grapsus albolineatus* Latreille in Milbert, 1812 from Manado Bay, North Sulawesi. *AACL Bioflux* 12(3):804-811.

<http://www.bioflux.com.ro/aac>

- Poore, C.B Gary. 2004. Marine Decapode Crustacea Of Southern Australia. A Guide To Identification. CSIRO Publishing. Australia. 578 hal
- Poupin J dan M. Juncker. 2010. A Guide To The Decapod Crustaceans of The South Pasific. Noumea, New Caledonia. Hal 319.
- Ruppert E.E and Barnes R. D. 1985. Invertebrate Zoologi. Sixth Edition. Clemson University, Soutcorolini. Gettysburg College, Pennsylvania. 1056 Hal
- Skinner M. Dorothy., 1962. The Structur and Metabolism of a crustacean integumen tissue during a molt cycle. Thw Biological Laboratoris. The Biological Bulletin. Departemant of Physiology and Biophysics. New York University School of Medicine. New york. Vol 123; Issue; Pages 635 – 647
- Skinner, M. Dorothy dan S.Sindhu Kumari.1992. Proteins of The Crustacean eksoskeleton. Biophysics Department-Biology Division. Johnson City, Tennessee. Jurnal Amer Zoology 32: Hal 470-484
- Stahl, E. 1985. Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi. Penerbit ITB JL. Genesa Bandung. 267 Hal.
- Vílchez. C, Forján. E, Cuaresma. M, Bédmar. F, Garbayo. I and Vega. J. M. 2011. Marine Carotenoids: Biological Functions and Commercial Applications. Journal Marine Drugs. Vol 9. Hal : 319-333.
- Zeak,W. L., Paransa, D. S. J., Rumengan, A., Kemer K., Paulus J.J.H., Mantiri D.M.H. 2019. Skrining Pigmen Karotenoid Pada Kepiting *Grapsus* sp. Dengan Menggunakan Pemisahan Kromatografi. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1 (1) : 52-58