

## PENGGUNAAN TEPUNG BUNGA MARIGOLD DAN TEPUNG *Haematococcus pluvialis* SEBAGAI SUMBER KAROTENOID PENGGANTI ASTAXANTIN UNTUK MENINGKATKAN KUALITAS WARNA IKAN KOI

Sukarman, Rina Hirnawati, Siti Subandiyah, Nina Meilisza, dan I Wayan Subamia

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias  
Jl. Perikanan No 13, Pancoran Mas, Depok 16436  
E-mail: carman\_gbg@yahoo.com

(Naskah diterima: 9 April 2013; Disetujui publikasi: 16 Mei 2014)

### ABSTRAK

Astaxantin sintetis umum digunakan untuk menjaga dan meningkatkan kualitas warna ikan hias tetapi meningkatkan biaya pakan 15%-30%, sehingga perlu dicari alternatif karotenoid pengganti yang efektif dan murah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi penggunaan tepung kelopak bunga marigold dan tepung *Haematococcus pluvialis* sebagai sumber karotenoid pengganti astaxantin sintetis untuk meningkatkan kualitas warna ikan koi. Pakan yang diujikan adalah: (A) pakan kontrol tanpa sumber karotenoid, (B) pakan yang diberi tambahan tepung kelopak bunga marigold, (C) pakan yang diberi tambahan tepung *Haematococcus pluvialis*, (D) kombinasi tepung kelopak bunga marigold dan tepung *Haematococcus pluvialis*, (E) pakan yang diberi tambahan astaxantin sintetis dan (F) pakan koi komersial; masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Parameter yang diamati adalah kualitas warna meliputi nilai *lightness* (L), *chroma* (CH), *hue* (H) dan kandungan karotenoid pada jaringan ikan. Pengukuran nilai L, CH, dan H pada tubuh (sisik) ikan dilakukan menggunakan kolorimeter Minolta CR-400, sedangkan pengukuran total karotenoid pada jaringan ikan (daging, kulit, sisik dan ekor) menggunakan spektrofotometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian karotenoid dari tepung bunga marigold sebesar 150 mg/kg pakan mampu menggantikan astaxantin sintetis dalam memperbaiki kualitas warna ikan koi dengan indikasi menurunnya nilai *lightness* hingga 66,61%; meningkatkan nilai *chroma* sebesar 54,44%; dan mempertahankan nilai *hue* 76,03 derajat, serta meningkatnya kandungan total karotenoid pada daging, kulit, sisik dan ekor ikan koi berturut-turut sebesar 23,07 mg/kg; 252,39 mg/kg; 138,89 mg/kg; 172,5 mg/kg. Sedangkan tepung *Haematococcus pluvialis* tidak bisa digunakan sebagai alternatif pengganti astaxantin sintetis untuk ikan koi.

**KATA KUNCI:** astaxantin, karotenoid, kualitas warna, marigold, ikan koi

**ABSTRACT:** *The use of marigold petal meal and Haematococcus pluvialis meal as alternative carotenoid to replace synthetic astaxanthin to improve color quality of koi carp. By: Sukarman, Rina Hirnawati, Siti Subandiyah, Nina Meilisza, and I Wayan Subamia*

*Synthetic astaxanthin generally use as feed supplement to maintenance and improve color quality of ornamental fish but had impact increasing cost of feed 15%-30%, therefore it's necessary to evaluate the cheaper alternative carotenoids sources. The research was conducted to evaluation of marigold petal meal and H. pluvialis meal as source of carotenoid to replace synthetic astaxanthin to improve color*

quality of koi carp fish. Tests carried out with the use of (A) control feed - non carotenoid source, (B) feed used marigold petal meal as carotenoid source, (C) feed-used *H. pluvialis* meal as carotenoid source, (D) combination of treatment B and C, (E) feed used synthetic astaxanthin as carotenoid source, and (F) commercial fancy carp feed. The parameters of color quality in the body fish such as lightness (L), chroma (CH) and hue (H) were observed by colorimeter. The total carotenoid in the muscle, skin, shell and tail were observed using spectrophotometer. The result showed that used marigold petal meal can replace synthetic astaxanthin in improved color quality of koi carp fish with an indication decreased value of lightness up to 66.61%, increased value of chroma up to 54.44% and maintain value of hue are 76.03 degree, and an increased total carotenoid content in flesh, skin, scales and tail of koi fish respectively 23.07 mg/kg, 252.39 mg/kg, 138.89 mg/kg, 172.5 mg/kg. The *H. pluvialis* meal cannot be used as an alternative to synthetic astaxanthin for koi fish.

**KEYWORDS:** *astaxanthin, carotenoid, color quality, marigold*

## PENDAHULUAN

Beberapa kriteria penting dalam menentukan kualitas ikan hias koi (*Cyprinus carpio*) antara lain bentuk tubuh, bentuk sirip, ukuran tubuh, pola warna dan kualitas warna kulitnya (Paripatanannont *et al.*, 1999; Yuangsoi *et al.*, 2010). Ikan tidak mampu menyintesis karotenoid sendiri (Gouviea & Rema, 2005; Ahilan *et al.*, 2008; Yuangsoi *et al.*, 2010; Gouveia *et al.*, 2003; Guillaume *et al.*, 2001; Jintasataporn & Yuangsoi, 2012; Sujath *et al.*, 2011; Simpson *et al.*, 1981), padahal karotenoid merupakan sumber warna yang utama pada kulit ikan (Sinha & Asimi, 2007).

Ikan yang hidup di alam memperoleh karotenoid dari pakan berupa fitoplankton atau zooplanton yang mengonsumsi alga dan bakteri fotosintesis. Pemeliharaan ikan hias secara intensif dalam air jernih atau akuarium menyebabkan ikan tidak selalu mendapatkan pakan alami, sehingga harus diberi pakan buatan yang mengandung karotenoid (Gouviea *et al.*, 2003). Hal tersebut menyebabkan warna ikan hias pada umumnya menjadi pudar pada saat dipelihara di dalam akuarium (Ahilan *et al.*, 2008; Ezhil *et al.*, 2008; Yanar *et al.*, 2008).

Beberapa jenis karotenoid yang digunakan untuk hewan akuatik adalah astaxantin, cantaxantin, lutein, zeaxantin dan tunaxantin (Matsuno, 2001). Astaxantin (3,3'-dihydroxy-4,4'-diketo- $\beta,\beta$ -carotene) dan cantaxantin (4,4'-diketo- $\beta,\beta$ -carotene) paling banyak digunakan sebagai suplemen pakan ikan salmon untuk meningkatkan warna merah pada dagingnya (Torrissen, 1989). Menurut Guillaume *et al.* (2001), suplementasi karotenoid sintetis tersebut meningkatkan biaya pakan sebesar 15%

30%. Kondisi ini memberikan peluang untuk mengevaluasi penggunaan beberapa sumber karotenoid alami seperti jenis kapang *Phaffia rhodozyma* (Bon *et al.*, 1997), bakteri laut *Agrobacterium auratiacum* (Yokoyama & Miki, 1995), *C. vulgaris* (Gouviea *et al.*, 1996), alga hijau *Haematococcus pluvialis* (Harker *et al.*, 1996; Yuan & Chen, 2000) dan bunga marigold *Tagetes* sp. (Guillaume *et al.*, 2001; Gupta *et al.*, 2007) dalam pakan ikan hias. Tepung *Haematococcus pluvialis* telah banyak diproduksi dan dijual sebagai sumber astaxantin alami untuk komoditas akuakultur (Gupta *et al.*, 2007), sedangkan kelopak bunga marigold mengandung karotenoid sebesar 6.000-13.000 mg/kg (Gupta *et al.*, 2007; Sukarman & Chumaidi, 2010; Hertrampf & Piedad-Pascual, 2000).

Tepung *Haematococcus pluvialis* dan tepung kelopak bunga marigold diduga mampu mempertahankan serta memperbaiki kualitas warna ikan koi. Penilaian warna terkini umumnya dilakukan menggunakan kolorimeter, seperti refleksi dari spektrofotometer yang mampu menghasilkan tiga karakteristik warna dan pengukuran karotenoid pada jaringan ikan secara kuantitatif, sehingga mudah dipahami. Secara visual, kombinasi ketiga karakter ini disebut oleh manusia sebagai sebuah warna seperti: merah, hijau, kuning, dan jenis warna lainnya. Tiga karakter warna untuk mengukur kualitas warna adalah *lightness* (L) merupakan tingkat kecerahan warna, *chroma* (CH) yaitu ekspresi dari jumlah zat pembentuk warna dan *hue* (H) yang menggambarkan jenis warna (*range of color*) (Guillaume *et al.*, 2001). Persepsi mengenai sistem warna L, CH, H perlu dipahami untuk menyimpulkan data hasil penelitian dengan

benar. Sebagaimana dilaporkan Guillaume *et al.* (2001) bahwa pada saat konsentrasi karotenoid (cantaxantin) dalam daging salmon meningkat maka nilai *chroma* (CH) atau saturasi juga meningkat, *lightness* (L) menurun, warna semakin pekat dan warna dagingnya menjadi lebih merah tua. *Hue* (H) mengekspresikan status dan struktur kimia dari jenis karotenoid yang disimpan, misalnya karotenoid jenis astaxantin merah (pink), cantaxantin (merah) dan lutein (kuning-oranye).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi penggunaan tepung kelopak bunga marigold dan tepung *Haematococcus pluvialis* sebagai sumber karotenoid pengganti astaxantin sintetis untuk meningkatkan kualitas warna ikan koi.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan benih ikan hias koi (*Cyprinus carpio*) varietas ogon berukuran 9-10 cm, berwarna seragam (kuning), dengan bobot rata-rata 13,80 gram/ekor. Padat tebar ikan dalam penelitian ini adalah sembilan ekor per akuarium, dengan ukuran akuarium 60 cm x 60 cm x 60 cm sebanyak 18 akuarium. Akuarium diatur dengan sistem air resirkulasi dilengkapi aerator untuk menstabilkan kadar oksigen terlarut.

Perlakuan yang diujikan adalah: (A) pakan tanpa sumber karotenoid, (B) pakan yang diberi tepung bunga marigold, (C) pakan yang diberi tepung *Haematococcus pluvialis*, (D) kombinasi tepung bunga marigold dan tepung *Haematococcus pluvialis*, (E) pakan yang diberi tambahan astaxantin sintetis dan (F) pakan koi komersial; setiap perlakuan menggunakan tiga ulangan. Bahan sumber karotenoid disesuaikan jumlahnya dalam formulasi (perlakuan D-E) sehingga total karotenoid dalam pakan sebesar 150 mg/kg, iso protein dan iso lemak. Dosis total karotenoid dalam pakan didasarkan pada pendapat Guillaume *et al.* (2001) bahwa level astaxantin dalam pakan direkomendasikan sebesar 100 mg/kg, namun Meyer & Latscha (1997) menambahkan bahwa total karotenoid dan astaxantin dalam pakan dapat ditingkatkan hingga 200 mg/kg. Percobaan ini menggunakan rata-rata dosis antara kedua pendapat tersebut. Komposisi bahan dan proksimat pakan ditampilkan dalam Tabel 1. Pakan diberikan sebanyak 3% dari bobot ikan dengan frekuensi pemberian pakan tiga kali sehari, selama 14 minggu. Waktu pemberian pakan pada pukul 08.00, 12.00, dan

16.00 WIB sedangkan *sampling* untuk pengukuran kualitas warna dan pertumbuhan dilakukan setiap dua minggu.

Parameter yang diamati adalah kualitas warna meliputi nilai *lightness* (L), *chroma* (CH), *hue* (H) pada sisik dan kandungan karotenoid pada jaringan ikan (ekor, sisik, kulit, dan daging). Pengukuran kualitas warna ikan hias menggunakan sistem warna L, CH, H baru pertama kali dilakukan, pengukuran dengan metode sejenis telah dilakukan oleh Sun *et al.* (2012) dengan menggunakan sistem warna L, a, b. Pengukuran kandungan total karotenoid dimaksudkan untuk mengetahui penyimpanan pigmen warna dan hubungannya dengan kualitas warna ikan koi. Koi merupakan ikan hias sehingga memerlukan pengukuran kualitas warna yang simpel, cepat, dan akurat (Sun *et al.*, 2012) pada saat ikan masih hidup. Pengukuran nilai L, CH, dan H menggunakan kolorimeter Minolta CR-400 hanya dilakukan pada tubuh ikan, karena bagian terluarnya adalah sisik maka bisa disetarakan dengan pengukuran kualitas warna pada sisik. Kandungan total karotenoid pada jaringan ikan (daging, kulit, sisik, dan ekor) diukur menggunakan spektrofotometer. Prosedur pengukuran total karotenoid adalah menggunakan metode Lorenz (2001), dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 40-50 mg sampel dimasukkan ke dalam gelas volumetrik berukuran 100 mL, ditambahkan aseton 25 mL kemudian dihomogenkan hingga larut sempurna. Ditambahkan aseton sampai volume gelas mencapai 100 mL, diaduk selama beberapa menit hingga merata. Larutan diambil 1 mL, lalu diencerkan dengan aseton 6 mL. Larutan dianalisis menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 380, 450, 475, dan 500 nm, hasil yang paling tinggi digunakan dalam perhitungan nilai total karotenoid.

$$TK = \frac{\text{abs maksimum}}{250} \times \frac{A \times P \times 100}{\text{bobot sampel (mg)}}$$

di mana:

TK = Total karotenoid (%)

abs = Absorban

A = 100 mL aseton

P = Pengenceran

Total karotenoid dalam persen kemudian dikonversi ke dalam satuan mg/kg.

Sebagai data pendukung dilakukan pengukuran panjang, bobot ikan serta kualitas

Tabel 1. Bahan baku dan komposisi proksimat pakan percobaan

Table 1. Feed ingredients and proximate composition of experimental diets

Bahan baku (g/kg) Ingredient (g kg <sup>-1</sup> )	Pakan percobaan (Experimental diets)					
	A	B	C	D	E	F
Pakan komersial (Commercial diets)	-	-	-	-	-	1,000
Tepung ikan (Fish meal)	336	340	333	337	336	-
Bungkil kedele (Soybean meal)	300	300	300	300	300	-
Tepung terigu (Wheat flour)	50	50	50	50	50	-
Dedak padi (Rice brand)	253.97	224.97	245.97	233.97	252.97	-
Vitamin premix	10	10	10	10	10	-
Mineral premix	10	10	10	10	10	-
CMC	10	10	10	10	10	-
Minyak ikan (Fish oil)	30	32	31	32	30	-
Tepung bunga marigold Marigold petal meal	-	23	-	12	-	-
Tepung <i>H. pluvialis</i> <i>H. pluvialis</i> meal	-	-	10	5	-	-
Astaxantin sintetis 10% Synthetic astaxanthin 10%	-	-	-	-	1.5	-
Anti oksidan (Anti oxydant)	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	-
<b>Jumlah (Total)</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>	<b>1,000</b>
<b>Komposisi Proksimat (g/100 g BK)</b>						
<b>Proximate Composition (g 100 g<sup>-1</sup> DM)</b>						
Bahan kering (Dry matter)	87.10	86.40	85.10	91.70	86.0	93.50
Protein kasar (Crude protein)	37.60	38.40	37.70	36.40	36.50	37.20
Lemak kasar (Crude fat)	9.33	9.12	8.87	9.47	9.84	9.46
Abu (Ash)	15.60	14.90	15.90	15.50	15.60	14.50
Jumlah karotenoid (Total carotenoid)	-	0.015	0.015	0.015	0.015	-

Keterangan (Remark):

A = Kontrol (Control), B = Tepung kelopak bunga marigold (Marigold petal meal), C = Tepung *H. pluvialis* (*H. pluvialis* meal), D = 50% B + 50% C, E = Astaxantin sintetis (Synthetic astaxanthin), F = Pakan komersial (Commercial diet)

air yang meliputi: suhu air, oksigen terlarut, pH, amonia, dan nitrit selama penelitian. Data hasil penelitian disajikan dalam bentuk rata-rata ± simpangan baku, dianalisis statistik ANOVA-one way menggunakan bantuan software JMP-7. Hasil yang menunjukkan perbedaan yang nyata diuji lanjut menggunakan uji-Tukey pada taraf kepercayaan 95%.

### HASIL DAN BAHASAN

Pemberian berbagai sumber karotenoid baik sintetis maupun alami memberikan dam-

pak positif terhadap kualitas warna ikan koi. Hasil pengamatan di sisik ikan koi menunjukkan bahwa pemberian tepung bunga marigold (B) memberikan hasil yang berbeda nyata lebih baik (P<0,05) pada parameter L (lightness) dan CH (chroma) dibandingkan kontrol dan sumber karotenoid lainnya. Sedangkan penggunaan astaxantin sintetis mampu memperbaiki nilai hue (H) secara nyata (P<0,05) sehingga kisaran warna ikan (range of color) terlihat lebih merah. Data hasil penilaian kualitas warna L, CH, dan H hasil penelitian disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter kualitas warna (L, CH, H) untuk sisik ikan koi pada akhir penelitian

Table 2. Parameter of color quality (L, CH, H) for koi carp fish shell at the end of experiment

Perlakuan Treatments	Kualitas warna ikan (Color quality of fish)		
	Lightness, L (%)	Chroma, CH (%)	Hue, H (derajat/degree)
A	72.08±6.57 <sup>a</sup>	29.07±6.29 <sup>de</sup>	81.70±5.33 <sup>a</sup>
B	66.61±5.87 <sup>b</sup>	54.44±7.78 <sup>a</sup>	76.03±4.76 <sup>bc</sup>
C	71.46±5.10 <sup>ab</sup>	33.20±8.14 <sup>cd</sup>	79.49±5.20 <sup>ab</sup>
D	69.90±6.93 <sup>ab</sup>	47.71±10.38 <sup>b</sup>	79.92±6.35 <sup>ab</sup>
E	68.06±8.17 <sup>ab</sup>	39.56±8.57 <sup>c</sup>	72.10±7.79 <sup>c</sup>
F	73.26±6.91 <sup>a</sup>	24.81±5.29 <sup>e</sup>	84.91±5.29 <sup>a</sup>

Keterangan (Remark):

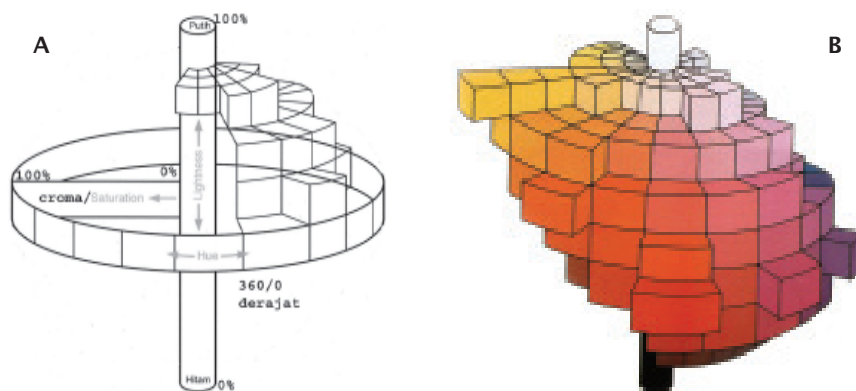
- A = Kontrol (Control), B = Tepung kelopak bunga marigold (Marigold petal meal), C = Tepung *H. pluvialis* (*H. pluvialis* meal), D = 50% B + 50% C, E = Astaxantin sintetis (Synthetic astaxanthin), F = Pakan komersial (Commercial diet)
- Huruf superscript berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) (The different superscript in the same coloum are significantly different ( $P < 0.05$ ))

Pada penelitian ini nilai hue sebesar 0 derajat adalah menggambarkan warna merah, dan terus meningkat hingga nilai 90 derajat yang berarti kuning. Ilustrasi mengenai sistem warna L, CH, H dapat dilihat pada Gambar 1A dan 1B.

Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 1 dapat dijelaskan bahwa nilai *lightness* (L) membaik (menurun) dengan penambahan karotenoid pada semua perlakuan. Nilai *lightness* terbaik diperoleh dari perlakuan pemberian tepung bunga marigold yaitu 8%-9% (A : B dan F : B) lebih rendah ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol (A) dan pakan komersial (F). Penambahan tepung *Haematococcus pluvialis* dan

astaxantin sintetis memperbaiki nilai L namun tidak signifikan ( $P > 0,05$ ) dibandingkan kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa warna ikan pada perlakuan B lebih gelap (*dark*) dibandingkan perlakuan lainnya. Menurut Guillaume *et al.* (2001), pada ikan salmon nilai *lightness* tergantung pada kondisi fisik daging, sedangkan Gouveia *et al.* (2003) melaporkan bahwa pemberian *C. vulgaris*, *H. pluvialis*, *A. maxima* (*spirulina*) dan astaxantin sintetis dalam pakan tidak mempengaruhi nilai *lightness* (L) pada kulit ikan koi (showa, kawari, bekkō) dan ikan koki (*Carassius auratus*).

Penambahan tepung bunga marigold serta kombinasinya dengan tepung *H. pluvialis*



Gambar 1. Sistem warna L (*lightness*), CH (*Chroma*), dan H (*Hue*) (A); ilustrasi warna (B)  
Figure 1. The color system of L, CH, and H (A); color illustration (B)

(B, D) dan astaxantin sintetis (E) mampu meningkatkan nilai *chroma* berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan kontrol. Nilai *chroma* terbaik dicapai pada penambahan tepung bunga marigold (B) diikuti perlakuan (D) dan penambahan astaxantin (E). Nilai *chroma* pada perlakuan B, D dan E mengalami peningkatan berturut-turut sebesar 86% (B:A), 64% (D:A) dan 37% (E:A) dibandingkan kontrol. Nilai *chroma* mengindikasikan adanya penimbunan karotenoid dalam sel pigmen (*chromatophore*). Menurut Satyani & Sugito (1997) warna-warni pada ikan disebabkan oleh adanya sel pigmen yang disebut *chromatophore*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan koi mampu menyerap karotenoid dari tepung bunga marigold dan astaxantin sintetis.

Kandungan karotenoid dalam tepung bunga marigold sekitar 80% berbentuk lutein (Sukarman & Chumaidi, 2010). Cantrill (2004) menambahkan bahwa komponen utama dalam kelopak bunga marigold adalah lutein. Lutein merupakan pigmen yang paling banyak terdapat pada ikan air tawar dan secara umum hanya sedikit pada ikan laut (Simpson *et al.*, 1981; Gupta *et al.*, 2007). Hasil penelitian mengindikasikan bahwa ikan koi mampu menyerap lutein dari tepung bunga marigold. Hal tersebut sesuai dengan laporan Simpson *et al.* (1981) bahwa baik ikan salmon maupun ikan koki mampu menyerap lutein dari sumber tanaman. Ikan koki dan koi termasuk jenis ikan omnivora sehingga diduga memiliki kemampuan yang setara dalam menyerap serta mengkonversi karotenoid. Penyerapan karotenoid dari tepung bunga marigold sangat efisien, terlihat dengan meningkatnya nilai *chroma* sebesar 37% (B:E) dibandingkan dengan penggunaan astaxantin sintetis. Selaras dengan hal tersebut Yuangsoi *et al.* (2010) juga merekomendasikan pengayaan karotenoid pada pakan ikan koi menggunakan sumber lutein atau karoten.

Penggunaan astaxantin sintetis dalam industri akuakultur untuk ikan salmon, udang maupun ikan hias telah banyak dilakukan. Penggunaan astaxantin sintetis dalam pakan ikan koi (E) menghasilkan nilai *chroma* yang lebih rendah dibandingkan perlakuan B dan D. Hal tersebut diduga karena tingkat kecernaan astaxantin sintetis sangat bervariasi yaitu antara 10%-60% (Guillaume *et al.*, 2001), tergantung pada sumber dan sifat kelarutannya dalam lemak. Berbeda dengan pendapat Hertrampf dan Piedad-Pascual (2000) yang menyatakan bahwa pada ikan salmon penye-

rapan astaxantin dan cantaxantin 10 -20 kali lebih baik dibandingkan dengan lutein dan zeaxantin. Hal tersebut juga didukung oleh pendapat Yuangsoi *et al.* (2010) bahwa pada ikan koi astaxantin lebih cepat diserap dibandingkan lutein dan karoten.

Astaxantin juga terdapat pada bahan-bahan tertentu seperti tepung kepala udang, rebon, dan alga *Haematococcus pluvialis* (Hertrampf & Piedad-Pascual, 2000; Lorenz & Cysewski, 2000). Pengaruh *H. pluvialis* terhadap nilai *chroma* lebih rendah ( $P < 0,05$ ) dibandingkan tepung bunga marigold dan astaxantin sintetis. Hal tersebut diduga karena adanya dinding sel yang tebal pada alga (Shiang, 2006). Dinding sel umumnya mengandung selulose tinggi yang menghambat penyerapan lemak, padahal karotenoid merupakan pigmen yang larut dalam lemak (Gouviea & Rema, 2005; Gupta *et al.*, 2007). Menurut Guillaume *et al.*, (2001), penambahan lemak pada pakan akan meningkatkan proses pigmentasi dan kecernaan pigmen.

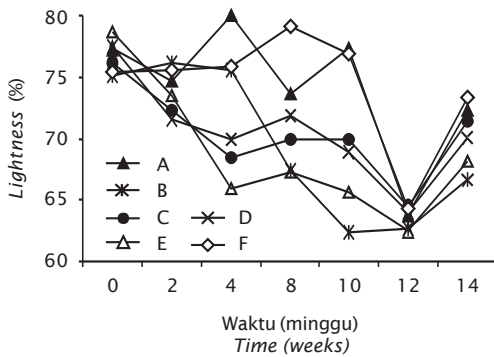
Nilai *hue* (H) mengekspresikan warna karotenoid yang tersimpan dalam jaringan tubuh ikan. Menurut Simpson *et al.* (1981), jenis karotenoid yang tersimpan dalam tubuh ikan koi adalah lutein dan astaxantin. Menurut Kusmiati *et al.* (2010) lutein merupakan karotenoid alami berbentuk kristal padat berwarna kuning. Telah diketahui bahwa ikan koi mampu mengkonversi lutein menjadi astaxantin (Yuangsoi *et al.*, 2010), namun sebagian besar tetap disimpan dalam bentuk lutein (Latscha, 1990). Sedangkan astaxantin merupakan karotenoid yang berwarna merah muda (Naguib, 2000; Gupta *et al.*, 2007). Kombinasi warna kuning dari lutein dan merah hasil konversi lutein ke astaxantin menyebabkan ikan berwarna lebih oranye pada perlakuan B, dibandingkan kontrol (A) serta pakan komersial (F). Nilai *hue* pada ikan yang diberi perlakuan tepung bunga marigold (76,03) secara statistik setara dengan nilai *hue* pada ikan yang diberi astaxantin (72,10), namun ada kecenderungan astaxantin menghasilkan nilai yang lebih baik. Hal tersebut karena astaxantin langsung bisa tersimpan dalam jaringan tubuh koi tanpa mengalami perubahan struktur kimia (Yuangsoi *et al.*, 2010) sehingga warnanya menjadi lebih merah dibandingkan perlakuan lainnya.

Proses perubahan nilai L, CH, dan H membutuhkan waktu yang cukup lama, walaupun menurut Guillaume *et al.* (2001) kandungan

karotenoid astaxantin dan cantaxantin dalam serum darah tertinggi dicapai pada saat 24 jam setelah ikan mengkonsumsi pakan yang mengandung kedua karotenoid tersebut. Proses perubahan nilai L, CH, H dalam sisik ditampilkan pada Gambar 2.

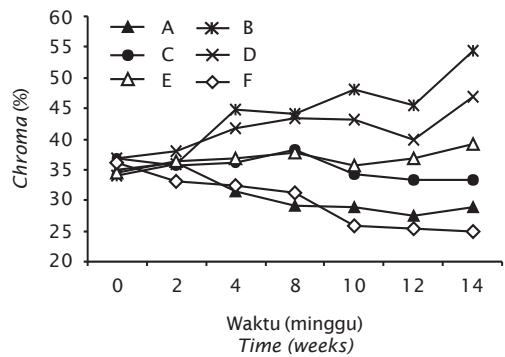
Berdasarkan Gambar 2a, 2b, dan 2c terlihat bahwa perubahan nilai *lightness* tidak berpola, sedangkan nilai *chroma* bergerak berdasarkan jenis sumber karotenoid yang diberikan. Pakan kontrol (A) dan pakan komersial bergerak menurun, pakan yang mengandung astaxantin baik sintetis (E) maupun alami dari *H. pluvialis* cenderung mampu mempertahankan nilai *chroma*, sedangkan pakan yang mengandung tepung bunga marigold (B,D) semakin meningkat nilai *chroma*-nya. Trend menurunnya nilai *hue* hanya ditunjukkan oleh

perlakuan B dan E. Hal tersebut karena tepung bunga marigold mengandung lutein (Cantril, 2004) yang merupakan kristal warna kuning (Kusmiati *et al.*, 2010), dan mampu dimetabolis menjadi astaxantin yang berwarna merah muda oleh ikan. Perubahan warna dari kuning ke merah muda menyebabkan menurunnya nilai *hue*. Hal serupa juga terjadi pada perlakuan E, dengan penambahan astaxantin sintetis warna merah pada sisik ikan semakin pekat sehingga nilai *hue* juga menurun. Secara keseluruhan perubahan nilai L, CH, dan H terlihat signifikan pada minggu keempat. Berdasarkan hal tersebut bisa dijelaskan bahwa proses penyimpanan karotenoid atau menurunnya karotenoid dalam jaringan ikan koi terjadi setelah empat minggu dilakukan pemberian pakan uji.



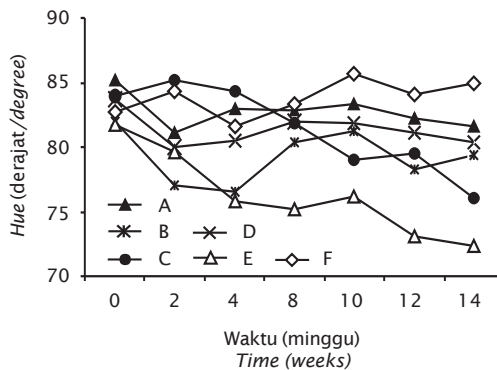
Gambar 2a. Nilai *lightness* sisik selama penelitian

Figure 2a. Value of *lightness* in scale during experiment



Gambar 2b. Nilai *chroma* sisik selama penelitian

Figure 2b. Value of *chroma* in scale during experiment



Gambar 2c. Nilai *hue* sisik selama penelitian

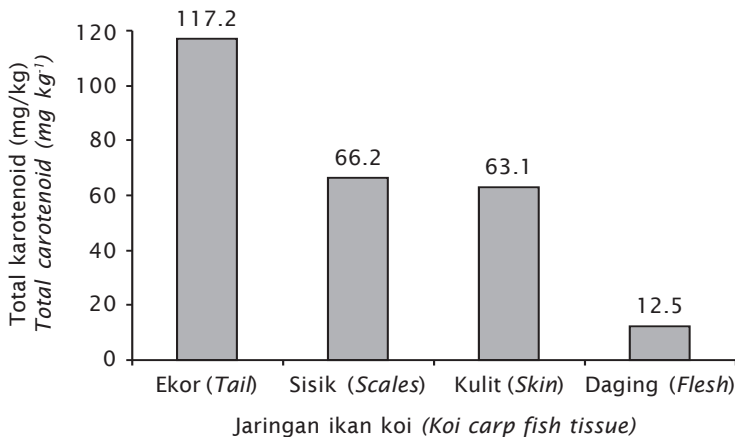
Figure 2c. Value of *hue* in scale during experiment

Krustase menyimpan karotenoid pada karapas 60%-90%, sisanya pada *hemolymph*, saluran pencernaan, gonad dan telur (Meyers & Latscha, 1997), sedangkan pada ikan karotenoid terdapat di kulit dan gonad ikan yang telah matang gonad (Torrissen & Christiansen, 1995). Guillaume *et al.*, (2001) menambahkan bahwa ikan salmon menyimpan karotenoid dalam daging dan otot. Latscha (1990) menjelaskan bahwa karotenoid juga tersimpan dalam hati, telur dan sirip ikan. Warna ikan hias sebagian besar terlihat pada sisik, sirip/ekor dan kulitnya, sehingga ketiga jaringan tersebut perlu dianalisis.

Data hasil penelitian mengenai perbandingan kandungan total karotenoid antar jaringan ikan koi ditampilkan pada Gambar 3. Rata-rata kandungan total karotenoid tertinggi pada ikan koi terdapat pada ekor (117 mg/kg), diikuti sisik (66 mg/kg), kulit (63 mg/kg) dan daging (12 mg/kg). Hal tersebut berbeda dengan laporan Liang *et al.* (2012) yang menyebutkan bahwa kandungan total karotenoid tertinggi pada ikan koi terdapat di bagian kulit diikuti oleh sisik, kulit kepala yang berwarna merah dan sirip. Perbedaan ini diduga karena strain ikan koi yang digunakan tidak sama. Namun demikian bagian-bagian tersebut (kulit, sisik dan ekor) merupakan jaringan yang secara langsung mampu mengekspresikan warna ikan hias, sedangkan daging diduga merupakan tempat penyimpanan karotenoid sementara. Konsentrasi total karotenoid pada masing-masing jaringan diduga sangat tergantung pada sumber dan jenis karotenoid yang diberikan melalui pakan.

Total karotenoid pada masing-masing jaringan ikan berbanding lurus dengan nilai L, CH, dan H pada sisik ikan koi. Terutama pada nilai *chroma* (CH), semakin tinggi nilai *chroma*, semakin tinggi pula kandungan total karotenoid pada jaringan tubuh ikan dan warna ikan juga semakin cemerlang. Kandungan total karotenoid pada ekor, sisik, kulit, dan daging ikan koi pada masing-masing perlakuan ditampilkan pada Gambar 4a-4d. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan total karotenoid berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) antara beberapa perlakuan dalam beberapa jaringan ikan koi termasuk daging.

Gambar 4a menunjukkan bahwa kandungan total karotenoid pada ekor ikan hasil perlakuan B ( $252 \pm 53$  mg/kg), D ( $187 \pm 13$  mg/kg) dan E ( $168 \pm 82$  mg/kg) setara dan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan perlakuan A ( $26 \pm 2,6$  mg/kg), C ( $37 \pm 14$  mg/kg), dan F ( $33 \pm 4,5$  mg/kg). Hal tersebut menunjukkan bahwa efektivitas penyerapan karotenoid dari tepung bunga marigold sama dengan astaxantin sintetis. Penggunaan tepung *Haematococcus pluvialis* (B) tidak mampu meningkatkan kandungan total karotenoid pada ekor. Kenaikan kandungan total karotenoid pada perlakuan D (kombinasi *Haematococcus pluvialis* dan tepung bunga marigold) diduga merupakan efek dari penambahan tepung bunga marigold saja. Pakan koi komersial yang digunakan pada penelitian ini tidak memberikan dampak terhadap kenaikan kandungan total karotenoid pada ekor. Belum diketahui jumlah maksimal kandungan karotenoid pada ekor ikan koi, walaupun telah dilaporkan bahwa tubuh ikan



Gambar 3. Perbandingan total karotenoid pada jaringan ikan koi  
Figure 3. Comparison of total carotenoid in koi carp fish tissue

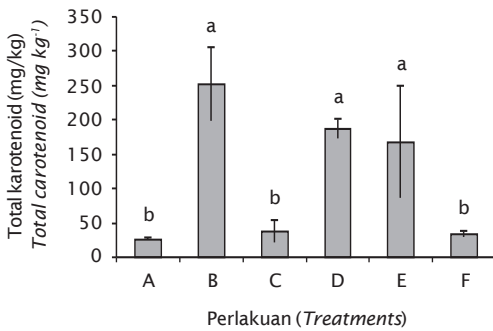


koi mengandung karotenoid dalam bentuk lutein dan astaxantin (Simpson *et al.*, 1981).

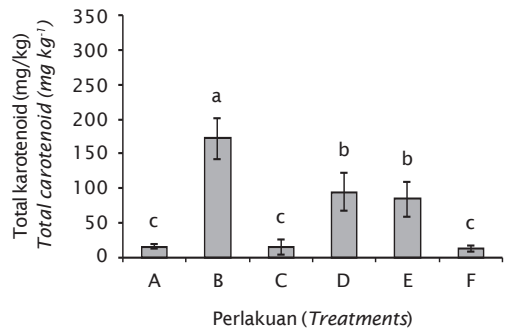
Kandungan total karotenoid pada sisik juga memperlihatkan kecenderungan data yang serupa. Perlakuan B menghasilkan kandungan total karotenoid pada sisik paling tinggi ( $173 \pm 30$  mg/kg) berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan perlakuan D ( $94 \pm 27$  mg/kg) dan E ( $84 \pm 25$  mg/kg) (Gambar 4b). Perlakuan D dan E juga lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan A ( $16 \pm 3$  mg/kg), C ( $15 \pm 12$  mg/kg), dan F ( $14 \pm 4$  mg/kg). Sisik merupakan bagian yang terluar, yang terlihat warnanya secara jelas. Kandungan total karotenoid pada sisik tidak hanya memperindah warna ikan koi, namun juga penting untuk menjaga kerusakan kulit dari sinar-sinar berbahaya (Guillaume *et al.*, 2001).

Jaringan tubuh ikan lainnya yang mengandung banyak karotenoid adalah kulit, hal tersebut karena warna kulit sangat tergantung pada *chromasthophores* (*melanosphores*, *xanthophores*, *eritrophores*, *leucophores*,

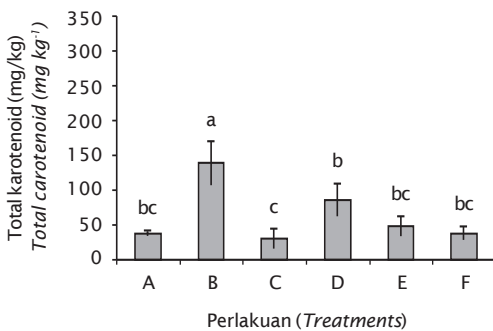
*cyanophores*) yang berisi pigmen melamin, karotenoid, pteridin, dan purin (Withers, 1992). Karotenoid merupakan pigmen yang larut dalam lemak yang pengaruhnya paling besar pada warna kulit ikan hias (Kestemont *et al.*, 1990; Paripatananont *et al.*, 1999). Kandungan total karotenoid pada kulit menunjukkan bahwa pemberian tepung bunga marigold memberikan hasil terbaik ( $P < 0,05$ ) dibandingkan perlakuan lainnya. Kandungan total karotenoid pada kulit dari yang tertinggi ke terendah berturut-turut adalah  $139 \pm 31$  mg/kg (B),  $85 \pm 23$  mg/kg (D),  $49 \pm 14$  mg/kg (E),  $38 \pm 10$  mg/kg (F),  $37 \pm 5$  mg/kg (A) dan  $30 \pm 14$  mg/kg (C). Nilai tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan laporan Gouveia *et al.* (2003) yang menyebutkan bahwa kandungan total karotenoid pada kulit ikan koi varietas showa dan bekkos sebesar 5,5-43,4 mg/kg. Tren penyerapan karotenoid pada kulit berbeda dengan penyerapan karotenoid pada sisik dan ekor. Hal tersebut diduga kulit bukan merupakan target akhir dari penyimpanan karotenoid. Perbedaan struktur kimia dari masing-masing karotenoid



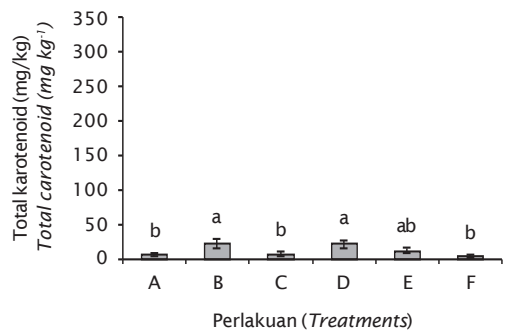
Gambar 4a. Total karotenoid ekor ikan koi  
Figure 4a. Total carotenoid in tail of koi carp



Gambar 4b. Total karotenoid sisik ikan koi  
Figure 4b. Total carotenoid in scales of koi carp



Gambar 4c. Total karotenoid kulit ikan koi  
Figure 4c. Total carotenoid in skin of koi carp



Gambar 4d. Total karotenoid daging ikan koi  
Figure 4d. Total carotenoid in flesh of koi carp

juga berpengaruh, Yanar *et al.* (2008) menjelaskan bahwa jenis karotenoid *teresterifikasi* mudah larut dalam lemak sehingga lebih cepat tersimpan dikulit dibandingkan karotenoid dalam bentuk bebas.

Total karotenoid pada daging koi lebih rendah dibandingkan dengan total karotenoid pada sisik, ekor dan kulit. Total karotenoid pada daging berkisar antara 4-30 mg/kg, hal tersebut setara dengan kandungan cantaxantin dalam daging ikan salmon yaitu 4-5 mg/kg karotenoid dan bisa dinaikkan menjadi 8-12 mg/kg tergantung pada *level cantaxantin* di dalam pakannya (Guillaume *et al.*, 2001). Sedangkan total karotenoid pada daging udang *Penaeus semisulcatus* yang diberi pakan mengandung bunga marigold selama 60 hari adalah sebesar 19,74 mg/kg (Göçer *et al.*, 2006). Hasil terbaik total karotenoid pada daging ikan koi dalam percobaan ini ditunjukkan pada perlakuan B (23,07 mg/kg), setara dengan D (21,65 mg/kg) dan E (12,34 mg/kg), namun berbeda nyata lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan A (5,99 mg/kg), C (7,63 mg/kg), dan F (4,25 mg/kg) yaitu meningkat sebesar 300%-500%.

Menurut Svensson & Scold (2012), hampir semua tipe sel *chromatosphore* terdapat pada kulit, sehingga hasil total karotenoid pada jaringan lainnya perlu dibandingkan dengan total karotenoid pada kulit. Total karotenoid pada kulit ikan koi 3-9 kali lebih tinggi dibandingkan pada daging, hal tersebut diduga karena kulit lebih banyak mengandung lemak. Hasil penelitian ini sesuai laporan dengan rasio karotenoid pada daging dan kulit ikan salmon yaitu 10 kali lipat (Guillaume *et al.*, 2001).

Hal yang menarik adalah rasio kandungan total karotenoid sisik/kulit (S/K). Rasio S/K pada perlakuan A dan F berturut-turut adalah 0,36-0,43, sedangkan pemberian *H. pluvialis* yang telah diketahui kurang berpengaruh pada parameter-parameter sebelumnya menghasilkan rasio S/K sebesar 0,51. Pemberian sumber karotenoid tepung kelopak bunga marigold (B, D) juga menghasilkan rasio S/K yang lebih rendah yaitu 1,24 dan 1,10; dibandingkan perlakuan astaxantin sintesis (1,74). Hal tersebut bermakna bahwa pemberian karotenoid dalam bentuk astaxantin lebih cepat memberi ekspresi warna ikan karena lebih cepat tersimpan dalam sisik yang merupakan bagian terluar dari ikan. Berdasarkan rasio S/K dapat diketahui juga karotenoid dari tepung

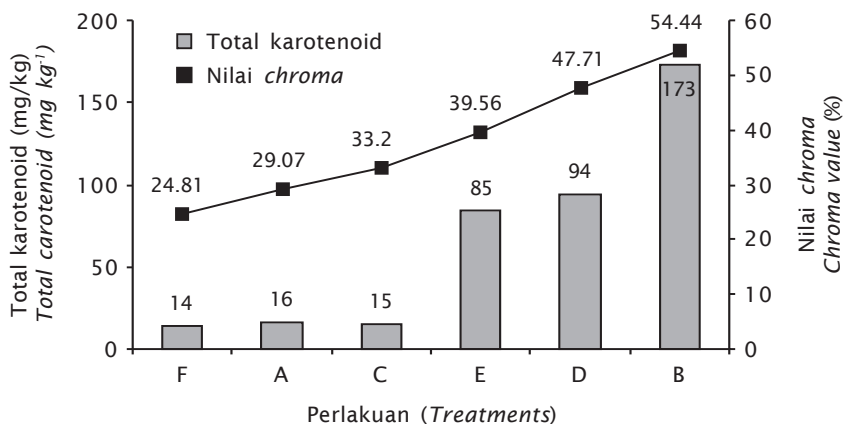
kelopak bunga marigold yang diduga lutein lebih mudah tersimpan dalam kulit. Hal ini karena komponen yang dominan pada kulit adalah lemak, sedangkan pada sisik adalah protein dan serat kasar. Kondisi ini diduga se-tipe dengan proses penyimpanan pigmen pada kerapas udang. Pigmen yang mampu berikatan dengan protein pada kerapas udang adalah astaxantin (Meyers & Latscha, 1997), pigmen yang lain seperti lutein dan  $\beta$ -karoten dikonversi terlebih dahulu dalam tubuh menjadi astaxantin sehingga jumlahnya berkurang.

Rasio konsentrasi karotenoid ekor/kulit (E/K) mempunyai pola yang sama dengan rasio S/K. Rasio E/K tertinggi diperoleh dari perlakuan E (3,46), diikuti D (2,18), B (1,82), dan C (1,23); dengan nilai total karotenoid ekor tertinggi 252 mg/kg pada perlakuan B. Berdasarkan data-data tersebut bisa dijelaskan bahwa penyimpanan astaxantin dalam ekor lebih cepat dibandingkan pada sisik. Hal tersebut didukung oleh data kualitatif yaitu pengamatan secara visual pada ikan selama percobaan berlangsung. Secara visual peningkatan kualitas warna pada ikan-ikan yang diberi astaxantin mula-mula terjadi pada ekor dan selanjutnya perubahan warna terjadi pada badan, sedangkan ikan-ikan yang diberi tepung bunga marigold sebaliknya. Hal ini selaras dengan bagan "*possible oxidative pathway*" karotenoid pada ikan dan krustase, dan pengelompokan ikan yang termasuk *family carp* sebagai ikan yang mampu menyimpan  $\beta$ -karoten, cantaxantin dan lutein tanpa mengubah struktur kimianya, dan mampu mengkonversi beberapa jenis karotenoid ke dalam astaxantin secara terbatas (Latscha, 1990; Guillaume *et al.*, 2001).

Hasil analisis total karotenoid pada sisik berbanding lurus dengan nilai *chroma* pada sisik. Hal tersebut bermakna bahwa semakin tinggi nilai *chroma* maka semakin tinggi pula kandungan total karotenoid pada sisik ikan koi dan warna ikan bertambah cemerlang. Hubungan antara total karotenoid dengan nilai *chroma* disajikan pada Gambar 5.

Data bobot tubuh, panjang total, dan sintasan pada akhir penelitian sebagai data pendukung disajikan dalam Tabel 3.

Bobot tubuh dan panjang total ikan pada akhir penelitian pada perlakuan A sampai E tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ), hal ini menunjukkan tidak ada pengaruh karotenoid terhadap pertumbuhan ikan. Menurut Sulawesty (1997), ikan pelangi merah yang diberi pakan



Gambar 5. Hubungan antara kandungan total karotenoid dengan nilai *chroma* pada sisik ikan koi

Figure 5. Relationship between carotenoid content with value of *chroma* in scale of koi fish

Tabel 3. Bobot tubuh, panjang total, dan sintasan ikan koi selama masa percobaan

Table 3. Body weight, total length, and survival rate of koi fish during the experiment

Perlakuan Treatment	Parameter (Parameters)				Sintasan Survival rate (%)
	Panjang total Total length (cm)		Bobot badan Body weight (g)		
	Awal (initial)	Akhir (final)	Awal (initial)	Akhir (final)	
A	9.80 ± 0.22	11.48 ± 1.47 <sup>b</sup>	14.07 ± 0.90	28.86 ± 9.21 <sup>b</sup>	100
B	10.01 ± 1.19	11.83 ± 1.49 <sup>b</sup>	13.81 ± 2.22	22.42 ± 9.53 <sup>b</sup>	100
C	10.05 ± 1.07	11.88 ± 1.29 <sup>b</sup>	13.61 ± 0.36	23.00 ± 9.76 <sup>b</sup>	96.2
D	10.02 ± 1.15	11.48 ± 1.16 <sup>b</sup>	13.65 ± 0.06	20.36 ± 5.92 <sup>b</sup>	100
E	10.10 ± 0.93	11.52 ± 1.03 <sup>b</sup>	13.87 ± 0.61	19.98 ± 6.68 <sup>b</sup>	100
F	10.00 ± 0.50	13.90 ± 1.03 <sup>a</sup>	13.76 ± 1.15	30.08 ± 11.67 <sup>a</sup>	96.2

Keterangan (Remark):

- A = Kontrol (Control), B = Tepung kelopak bunga marigold (Marigold petal meal), C = Tepung *H. pluvialis* (*H. pluvialis* meal), D = 50% B + 50% C, E = Astaxantin sintetis (Synthetic astaxanthin), F = Pakan komersial (Commercial diet)
- Huruf superscript berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) (The different superscript in the same coloum are significantly different ( $P < 0.05$ ))

dengan kandungan karotenoid berbeda dari 0-120 mg/kg pakan, secara statistik menghasilkan berat badan yang sama. Sedangkan bobot badan dan panjang total pada perlakuan F lebih tinggi ( $P < 0,05$ ), dibanding perlakuan lainnya. Pakan F (komersial) umumnya dibuat berdasarkan standar kualitas bahan baku ketat dan menggunakan mesin yang lebih modern (*extruder*). Misra *et al.* (2002) menjelaskan bah-

wa pakan yang dibuat menggunakan *extruder* (pakan terapung) menghasilkan performa ikan yang lebih baik.

Kualitas air yang digunakan relatif stabil selama penelitian pada semua perlakuan, hal tersebut karena menggunakan sistem sirkulasi dengan penambahan aerator. Suhu air berkisar 26,9°C-27,5°C; pH 6,64-7,10; oksigen terlarut 5,85-6,37 mg/L; amonia 0,001 mg/L;

dan nitrit sebesar 0,03-0,009 g/L. Kisaran nilai parameter kualitas air termasuk normal dan bisa digunakan untuk proses budidaya ikan koi.

## KESIMPULAN

Pemberian karotenoid dari tepung bunga marigold sebesar 150 mg/kg pakan mampu menggantikan astaxantin sintetis dalam memperbaiki kualitas warna ikan koi dengan indikasi menurunnya nilai *lightness* hingga 66,61%; meningkatkan nilai *chroma* sebesar 54,44% dan mempertahankan nilai hue 76,03 derajat, serta meningkatnya kandungan total karotenoid pada daging, kulit, sisik, dan ekor ikan koi berturut-turut sebesar 23,07 mg/kg; 252,39 mg/kg; 138,89 mg/kg; 172,5 mg/kg. Sedangkan tepung *H. pluvialis* tidak bisa digunakan sebagai alternatif pengganti astaxantin sintetis untuk ikan koi.

## DAFTAR ACUAN

- Ahilan, B., Jegan, K., Felix, N., & Raveneswaran, K. 2008. Influence of Botanical Additives on the Growth and Coloration of Adult Goldfish. *Tamil Nadu Journal Veterinary and Animal Science*, 4(4): 129-134.
- Bon, J.A., Leathers, T.D., & Jayaswal, R.K. 1997. Isolation of astaxanthin-overproducing mutants of *Phaffia rhodozyma*. *Biotechnology Letters*, 19: 109-112.
- Cantril, R. 2004. Lutein from *Tagetes erecta*. Chemical and Technical Assesment (CTA), 63rd JECFA. FAO, 5 pp.
- Ezhil, J., Jeyanthi, C., & Narayanan, M. 2008. Marigold as a Carotenoid Source on Pigmentation and Growth of Red Swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 8: 99-102.
- Göçer, M., Yanar, M., Kumlu, M., & Yanar, Y. 2006. The Effect of Red Pepper, Marigold Flower, and Synthetic Astaxanthin on Pigmentation, Growth and Proximate Composition of *Penaeus semicultacus*. *Turk. J. Vet. Anim.*, 30(4): 359-365.
- Gouveia, L. & Rema, P. 2005. Effect of Micro Algal Biomass Concentration and Temperature on Ornamental Goldfish (*Carassius auratus*) Skin Pigmentation. *Aquaculture Nutrition*, 11: 19-23.
- Gouveia, L., Rema, P., Pereira, O., & Empis, J. 2003. Colouring Ornamental Fish (*Cyprinus carpio* and *Carassius auratus*) with Micro Algal Biomass. *Aquaculture Nutrition*, 9: 123-129.
- Gouveia, L., Gomes, E., & Empis, J. 1996. Potential use of a microalga (*Chlorella vulgaris*) in the pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und-Forschung*, 202: 75-79.
- Gupta, S.K., Jha, A.K., Pal, A.K., & Venkateshwarlu, G. 2007. Use of Natural Carotenoids for Pigmentation in Fish. *Natural Product Radiance*, 6(1): 46-49.
- Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P., & Métailler, R. 2001. Nutrition and Feeding of Fish and Crustacean. Chichester : Praxis Publishing Ltd, 408 pp.
- Harker, M., Tsavalos, A.J., & Young, A.J. 1996. Autotrophic growth and carotenoid production of *Haematococcus pluvialis* in a 30 liter air-lift photobioreactor. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 82: 113-118.
- Hertrampf, J.W. & Piedad-Pascual, F. 2000. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Boston: Kluwer Academic Publisher, 573 pp.
- Jintasataporn, O. & Yuangsoi, B. 2012. Stability of Carotenoid Diets During Feed Processing and Under Different Storage Conditions. *Molecules*, 17(5): 5,651-5,660.
- Kestemont, P., Melard, C., Micha, J.C., & Philippart, J.C. 1990. Développement à l'échelle pré-industrielle de la reproduction artificielle et de l'alevinage intensif du goujon et de quelques autres espèces de poissons d'eau douce. Convention de recherche, Min. Reg. Wal., Rapp. Annu., 2: 89-100.
- Kusmiati, Agustini, N.W.S., Tamat, S.R., & Irawati, M. 2010. Ekstraksi dan Purifikasi Senyawa Lutein dari Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* Galur Lokal Ink. *Jurnal Kimia Indonesia*, 5(1): 30-34.
- Latscha, T. 1990. Carotenoids-Their Nature and Significance in Animal Feeds. F. Hoffmann, La Roche Ltd. Basel, Switzerland, 45 pp.
- Liang, Y., Bai, D., Yang, G., Wei, D., Guo, M., Yan, S., Wu, X., & Ning, B. 2012. Effect of Astacin on Growth and Color Formation of Juvenil Red-White Ornamental Carp (*Cyprinus carpio* var. koi L.). *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, IJA\_64.2012.748, 6 pp.
- Lorenz, R.T. 2001. HPLC and Spectrophotometric Analysis of Carotenoids from *Haematococcus pluvialis* Algae Oleoresin. BioAstin/ Naturose™ Technical Bulletin

- # 20. Cyanotech Corporation, 9 pp.
- Lorenz, R.T. & Cysewski, G.R. 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends Biotechnol.*, 18: 160-167.
- Matsuno, T. 2001. Aquatic Animal Carotenoids. *Fish Science*, 67: 107-783.
- Meyers, S.P. & Latscha, T. 1997. Carotenoids. In D'Abramo, L.R.D., D.E. Conklin and D.M. Akiyama (Editors). *Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture*, 6: 164-186.
- Misra, C.K., Sahu, N.P., & Jain, K.K. 2002. Effect of Extrusion Processing and Steam Pelleting Diets on Pellet Durability, Water Absorption and Physical Response of *Macrobrachium rosenbergii*. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2002, 15(9): 1,354-1,358.
- Naguib, Y.M.A. 2000. Antioxidant activities of Astaxanthin and Related Carotenoids. *Agric. Food. Chem.*, 48: 1,150-1,154.
- Paripatananont, T., Tangtrongpairoj, J., Sailasuta, A., & Chansue, N., 1999. Effect of Astaxanthin on The Colouringation of Goldfish, *Carassius auratus*. *Journal World Aquaculture Society*, 30: 454-460.
- Satyani, D. & Sugito, S. 1997. Astaxantin Sebagai Suplemen Pakan untuk Peningkatan Warna Ikan Hias. *Warta Penelitian dan Perikanan Indonesia*, 3(1): 6-8.
- Shiang, T.P. 2006. *Skin Colour Changes in Ornamental Koi (Cyprinus carpio) Feed Different Dietary Carotenoid Source*. Thesis, University of Malaysia.
- Simpson, K.L., Katayama, T., & Chichester, C.O. 1981. Carotenoid in Fish Feeds. In Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors. (Ed. by J.C. Bauernfeind). New York: Academic Press Inc., p. 463-538.
- Sinha, A. & Asimi, O.A. 2007. China Rose (*Hibiscus rosasinensis*) Petals: a Potent Natural Carotenoid Source for Goldfish (*Carassius auratus* L.). *Aquaculture Research*, 38: 1,123-1,128.
- Sujath, B.J.S., Shalin, J.J., & Palavesam, A. 2011. Influence of Four Ornamental Flowers on the Growth and Colouration of Orange Swordtail Chicilidae Fish (*Xiphophorus hellerei*, Heckel, 1940). *International Journal Biology Medecine Resource*, 2(3): 621-626.
- Sukarman & Chumaidi. 2010. Bunga Tai Kotok (*Tagetas* sp.) Sebagai Sumber Karotenoid pada Ikan Hias. Pusat Riset Perikanan Budidaya. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. Buku I. Jakarta. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budidaya, p. 803-807.
- Sulawesty, F. 1997. Perbaikan Penampilan Warna Ikan Pelangi Merah (*Glassolepis incisus*) Jantan dengan Menggunakan Karotenoid Total dari Rebon. *LIMNOTEK Perairan Darat Tropis di Indonesia*, 5(1): 23-29.
- Sun, X., Chang, Y., Ye, Y., Ma, Z., Liang, Y., Li, T., Jiang, N., Xing, W., & Luo, L. 2012. The Effect of Dietary Pigments on The Coloration of Japanese Ornamental Carp (Koi *Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 342-343 (2012): 62-68.
- Svensson, P.A. & Scold, H.N. 2012. Skin Biopies as Tools to Measure Fish Colour Change. [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com). < diakses tanggal 7 Pebruari 2012).
- Torrissen, O.J. & R. Christiansen. 1995. Requirement for Carotenoids in Fish Diets. *Journal Applied Ichthyology*, 11: 225-230.
- Torrissen, O.J. 1989. Pigmentation of salmonids: interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout. *Aquaculture*, 79: 363-374.
- Withers, P.C. 1992. *Comparative Animal Physiology*. Brook Cole\_Tomson Learning, 94-pp.
- Yanar, M., Erçen, Z., Hunt, A.ö., & Büyükçapar, H.M. 2008. The use of Alfalfa as a Natural Carotenoid Source in Diets of Goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 284: 196-200.
- Yokoyama, A. & Miki, W. 1995. Composition and presumed biosynthetic pathway of carotenoid in the astaxanthin-producing bacterium *Agrobacterium aurantiacum*. *FEMS Microbiology Letters*, 128: 139-144.
- Yuangsoi, B., Jintataporn, O., Tabthipwon, P., & Kamel, C. 2010. Utilization of Carotenoids in Fancy Carp (*Cyprinus carpio*) : Astaxanthin, Lutein and - Carotene. *World Applied Science Journal*, 11(5): 590-598.
- Yuan, J.P. & Chen, F. 2000. Purification of trans-astaxanthin from a high-yielding astaxanthin ester-producing strain of the microalga *Haematococcus pluvialis*. *Food Chemistry*, 68: 443-448.