

serta meningkatkan intensitas warna kulit ikan. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian Chapman dan Miles, (2018) menunjukkan bahwa total karotenoid pada kulit ikan berhubungan dengan fenotipe ikan hias serta mempengaruhi pewarnaan ikan. Serta Guroy *et al.* (2022) penyebaran xantofor mempengaruhi intensitas warna pada ikan dan dapat ditingkatkan melalui karotenoid yang dikonsumsi dan berasimilasi. Serta Ninwichian *et al.* (2020); Mansour *et al.*, (2020) menyatakan bahwa pengendapan karotenoid kapasitas lebih tinggi pada kulit ikan daripada sisik dan karotenoid ikan tidak mampu menciptakan pigmen warna tipe tertentu seperti merah, jingga, dan kuning semuanya harus diperoleh dari pakan. Oleh sebab itu, warna ikan terpaut erat dengan kandungan nutrisi pakan yang terkait pewarnaan ikan. Menurut Micah *et al.* (2022) bahwa terdapat 3 pigmen utama yang bertanggung jawab atas pewarnaan pada semua vertebrata yaitu melanin, pteridin, dan karotenoid. Melanin dan pteridin dapat disintesis sedangkan karotenoid tidak dapat disintesis. Maka dari itu, pencampuran karotenoid di pakan ikan sangat membantu dalam hal pigmentasi ikan.

Pada fase benih, nemo membutuhkan karotenoid agar dapat mempertahankan warna morfologinya (Morais, 2019). Dengan demikian, menaikkan kemampuan ikan dalam menyimpan karotenoid dalam kulitnya (Lalita *et al.*, 2022). Pada saat konsentrasinya bertambah, penumpukan karotenoid di otot serta daging menyusut hingga menyebabkan depigmentasi. Akan tetapi jika berhubungan dalam reproduksi, fungsi karotenoid dialihkan ke gonad serta ke kulit (Sinha, 2022). Hal tersebut didukung oleh Schmeisser *et al.* (2021) bahwa keahlian dalam memetabolisme serta mengakumulasi karotenoid pada otot serta kulit berganti bersamaan dengan fase perkembangan serta fisiologis. Penyerapan serta pengendapan karotenoid berkaitan dengan spesies, umur, serta kondisi fisiologis ikan (Fang *et al.*, 2022). Karotenoid pada ikan akan diserap di usus selanjutnya diangkut ke gonad serta kulit dan akan terakumulasi. Karotenoid mempunyai sifat hidrofobik yang mana seluruh aktivitasnya bergantung dengan lipid sehingga tidak terdapat jalur khusus dalam metabolisme serta transformasi berikutnya (Das dan Biswas, 2016).

Pemberian dosis melewati batas maksimum tidak termanfaatkan serta dapat terbuang jadi feses bahkan mengakibatkan warna ikan akan menurun. Menurut Pratiwi *et al.* (2022) bahwa pemberian karotenoid pada benih ikan nemo mempunyai batas tingkat konsumsi optimal dalam hal pigmentasi. Berdasarkan kapasitas metabolisme ikan menurut Wu *et al.* (2020) ikan salmon dapat menyerap astaxanthin sekitar 50%. sedangkan, bagi Pailan *et al.* (2019) pemberian karoten dengan dosis yang berbeda hendak pengaruhi system kerja hormon. Kelebihan karotenoid dapat menyebabkan stres metabolik yang dapat mengakibatkan hilangnya pigmen yang terakumulasi ditubuh ikan (Teimouri *et al.*, 2013).

Karotenoid pada pakan ikan berfungsi sebagai pewarnaan ikan (Pereira da Costa *et al.*, 2020) dan merupakan golongan pigmen yang laruk dalam lemak, bertanggung jawab atas warna merah, kuning, dan oranye serta terakumulasi pada otot, kulit, dan eksoskeleton ikan/kerang (Camacho *et al.*, 2019). Beberapa penelitian dalam hal peningkatan intensitas warna dengan penambahan karotenoid pada pakan ikan yakni murbei hitam (*Morus nigra*) terhadap rainbow trout (Shekarabi *et al.*, 2020), wortel (*Daucus carota*) terhadap *Carassius auratus* (Tiewsoh *et al.*, 2019), *P. rhodozyma* terhadap *cyprinus carpio* (Ninwichian *et al.*, 2020). Spirulina terhadap *Pseudotropheus acei* (Guroy *et al.*, 2012). *Haematococcus pluvialis* terhadap *litopenaeus vannamei* (Ju *et al.*, 2011).

### **3. Distribusi, Ukuran Pigmen, dan Intensitas Warna Kulit Ikan Nemo**

Pola warna pada ikan sangat beragam hal tersebut disebabkan oleh ikan yang memiliki bermacam tipe warna. Ikan nemo mengandung 3 jenis sel pigmen yaitu melanofor (hitam), xantofor (oranye/merah) dan iridofor (putih) (Moore *et al.*, 2023). Dikarenakan ikan nemo lebih dominan warna oranye/merah maka xantofor lebih banyak dikulit ikan nemo dibandingkan dengan melanofor dan iridofor. Proses sintesis pigmen dalam kromatofora, proses transportasi, dan pengendapan berperan penting dalam pembentukan fenotipe warna kulit akhir (Tian *et al.*, 2022). Selain itu, distribusi ukuran kromatofor merupakan salah satu aspek dalam menentukan pola pigmen (Fang *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil analisis mikroskopik (Gambar 18) pada akhir pemeliharaan setelah pemberian karotenoid pada ikan nemo terjadi perubahan warna yakni oranye kemerahan serta distribusi xantofor lebih meningkat hal tersebut juga mengakibatkan warna ikan lebih cerah. Hal tersebut berkorelasi dengan asupan karotenoid yang didapatkan melalui pakan. Jumlah dosis karotenoid yang berbeda mengakibatkan perbedaan warna kulit ikan dengan tanpa pemberian karotenoid. Karotenoid adalah senyawa organik yang terdiri dari ikatan rangka karbon terkonjugasi yang memberikan warna kuning hingga merah pada berbagai jenis tumbuhan, mikroorganisme, dan hewan termasuk pada kulit ikan (Zia-UI-Haq, 2021).

Peralihan warna pada ikan berkaitan dengan protein dan enzim yang terlibat dalam produksi dan pengaturan pigmen karotenoid (Ahi *et al.*, 2020). Protein berperan dalam metabolisme karotenoid terutama berkaitan dengan transportasi, pengikatan, dan aktivitas enzim-enzim yang berkaitan dalam proses ini. Tanpa bantuan enzim karotenoid tidak dapat diproduksi dalam xantosom (Rebeoul 2013). Senyawa karotenoid diubah menjadi bentuk yang lebih sederhana sehingga dengan mudah diubah oleh enzim yang terdapat di xantosom ( Djurdjevic *et al.*, 2015;Maoka, 2020 ). Seperti monogalaktosil

lutein atau digalaktosil beta-karoten (Gedi *et al.*, 2019). Enzim yang terdapat dalam xantofor akan bekerja memproduksi karotenoid dalam xantosom (Djurdjevic *et al.*, 2015). Xantosom merupakan tempat disimpannya karotenoid, kemudian didistribusikan kekulit ikan dalam bentuk xantofor. Proses ini melibatkan pemecahan dan penggabungan senyawa karotenoid serta penghapusan gugus-gugus oksigen tertentu untuk menghasilkan warna xantofor yang berbeda seperti astaksantin, atau zeaksantin, yang memberikan warna merah pada kulit ikan (Rebelo *et al.*, 2020; Toomey *et al.*, 2022; Nusslein-Volhard dan Singh, 2017). Karotenoid berasal dari tomat. Tomat memiliki banyak kandungan bioaktif yang sangat baik terutama karotenoid (Pinela *et al.*, 2016). Serta Fang *et al.* (2022) melaporkan bahwa warna kulit pada ikan berkaitan dengan tipe serta konsentrasi karotenoid di dalam kulit, berdasarkan proses penyerapan serta pengendapan. Sheng *et al.* (2022) juga melaporkan bahwa kulit merah *M. anguillicaudatus* terkait dengan kandungan karotenoid.

Akumulasi karotenoid pada kulit ikan tidak merata yakni bagian punggung hingga ekor terlihat lebih ke oranye kegelapan sedangkan bagian lainnya terlihat berwarna oranye terang. Menurut Hamre *et al.*, (2021) distribusi pigmen di kulit ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni sinar matahari, genetik, dan lingkungan. Sedangkan menurut Sheng *et al.*, (2022) bahwa hal tersebut disebabkan oleh endapan karotenoid. Serta Toomey *et al.* (2022) bahwa endapan karotenoid di kulit ikan lebih padat di bagian punggung dibanding badan. hal tersebut, karena sel-sel pigmen bermigrasi dari garis tengah dorsal ke jaringan akhirnya berdiferensiasi yang memungkinkan distribusi xantofor terlihat tidak merata dan tidak berpola. Satu sisi terdistribusi secara padat namun satu sisi lainnya tidak terdapat pigmen. Hal tersebut berkaitan dengan intraksi sel-sel pigmen hal tersebut mempengaruhi konsentrasi sel pigmen di berbagai area kulit. Pola pigmen ditentukan terutama oleh jumlah, ukuran, dan distribusi berbagai jenis sel (Bolker dan Hill, 2000).

Xantofor merupakan sel dendritik (Susnik Bajec *et al.*, 2022). Dalam penyimpanannya terdapat sel pigmen yakni karotenoid yang menyerap cahaya. Karotenoid disimpan dalam kromatosomnya, yaitu xantosom (Ligon dan McCartney, 2016). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian karotenoid yang ditambahkan ke pakan ikan berpengaruh terhadap distribusi xantofor di kulit ikan nemo. Namun, variasi ukuran rata-rata xantofor tidak berkaitan langsung dengan pemberian karotenoid. Hal tersebut, berkaitan dengan pembentukan dan kematangan xantofor. Kemungkinan pemberian karotenoid lebih berpengaruh terhadap jumlah produksi sel pigmen dalam xantofor. Pembentukan xantofor diasumsikan mempunyai tahapan yang hampir sama dengan melanosom, yakni mempunyai 4 tahap. Berdasarkan hasil penelitian D'Alba dan Shawkey, (2019) bahwa melanosom pada awalnya merupakan hasil pembentukan dari

pengangkutan berbagai protein membran dan protein yang larut ke dalam endosom. Pada tingkat ini melanosom sudah terbentuk dan terdapat enzim tirosinase namun belum ada produksi melanin. Serta penelitian Navarro *et al.* (2008) bahwa ikan *Carassius auratus* tahap 1 dan 2 dalam perkembangan melanosom tampak kekurangan pigmen namun mengandung serat protein. Sintesis melanin dimulai pada tahap 3, pada tahap 4 melanosom sepenuhnya menghasilkan pigmen.

Begitupun juga dengan xantofor bahwa awal pembentukan xantofor terkait dengan protein dan enzim (Luo *et al.*, 2021). Tahap pertama pembentukan xantosom pada sel kulit ikan. Sel kulit ikan memiliki pigmen khusus yakni kromatofor salah satunya xantofor yang menghasilkan xantosom. Pada tahap ini protein mengatur dan mengontrol pembentukan xantosom (Luo *et al.*, 2021). Tahap kedua xantofor telah terbentuk melibatkan enzim-enzim dalam produksi xantosom pada xantofor. Tahap ketiga senyawa karotenoid yang diserap oleh ikan akan disimpan dalam dalam xantosom pada xantofor (Grether *et al.*, 2004). Tahap keempat xantofor didistribusikan ke kulit ikan untuk memberikan warna pada pada ikan (Nusslein *et al.*, 2017).

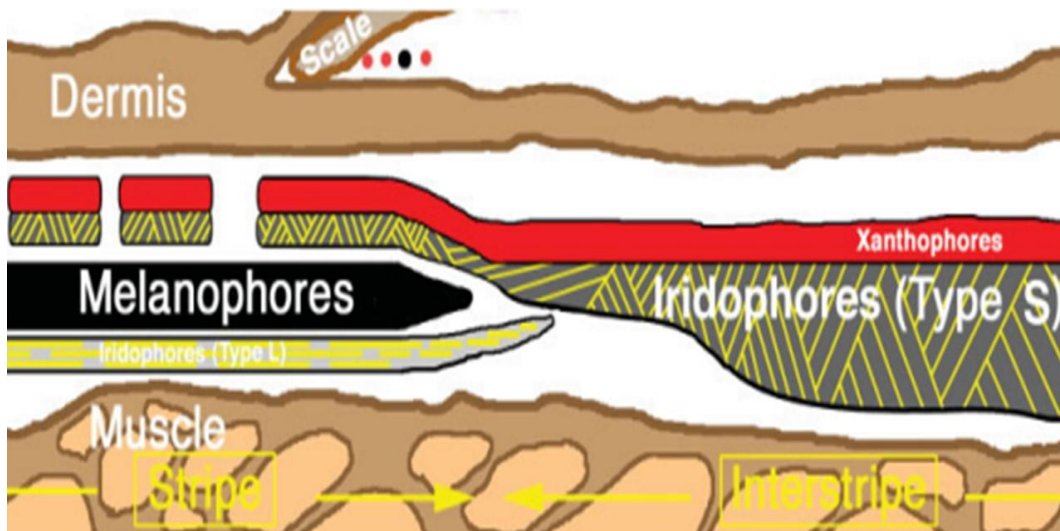
Pada tahap xantofor sudah terbentuk terdapat phytoene synthase (PSY) yang bertanggung jawab untuk mengkatalisis pembentukan phytoene yang merupakan prekursor bagi berbagai jenis karotenoid (Nakano *et al.*, 2008). Phytoene mengalami modifikasi berturut-turut seperti desaturasi dan isomerasi untuk membentuk likopen. Melalui modifikasi phytoene organisme dapat menghasilkan karotenoid penting dalam fungsi biologisnya hal tersebut dijelaskan dalam pembahasan Rebelo *et al.* (2020) terkait dengan rekayasa biosintesis karotenoid. Pembentukan xantofor pada kulit ikan melibatkan sejumlah enzim dan jalur metabolisme yang sangat rumit. Hal tersebut tergantung pada nutrisi dan kondisi lingkungan media pemeliharaan ikan. Peran protein dalam proses ini membantu dalam mengatur pembentukan xantofor pada sel kulit ikan dan dalam produksi enzim-enzim yang berhubungan dengan proses ini (Liang *et al.*, 2020; Hou *et al.*, 2022). Selama pembentukan, xantofor mengalami perkembangan yakni xantofor mengalami perubahan menjadi xantofor dewasa atau dentrik. Proses ini dipengaruhi oleh faktor nutrisi, genetik, dan lingkungan. Xantofor secara signifikan lebih banyak pada kulit berwarna jingga daripada kulit hitam (Renko *et al.*, 2022). Oleh sebab itu, diduga terdapat hubungan erat antara fenotipe, kematangan dan kuantitas xantofor pada ikan nemo.

Struktur dentrik terlihat seperti bunga besar menandakan bahwa struktur dentrik sudah memasuki fase dewasa tetapi xantofor yang belum matang tidak menunjukkan struktur dendritik (Zhang *et al.*, 2022). Berdasarkan Gambar 19 tanpa pemberian karotenoid memiliki ukuran xantofor yang terlihat sudah ada yang memasuki fase dewasa. Namun, produksi sel pigmenya semakin berkurang ditandai dengan

menurunnya intensitas warna kulit ikan nemo hal tersebut berkaitan dengan asupan karotenoid yang tidak terpenuhi. Menurut penelitian Djurdjevic *et al.* (2015) jika xantofor kehilangan warna, bentuk struktur xantofor tetap ada namun tampak kosong dalam artian tidak ada produksi butiran pigmen didalamnya. Menurut Guo *et al.* (2007) warna ikan serta pembentukan pola pigmen pada ikan berhubungan dengan jumlah dan distribusi melanofor, xantofor, dan iridofor. Perlakuan 0,5 %, 1 %, dan 1,5 % menunjukkan variasi ukuran yang tidak berbeda nyata. Hal tersebut diduga kematangan xantofor terjadi secara bertahap berdasarkan pengendapan karotenoid di kulit ikan. Menurut Sinha, (2022) Jumlah deposit karotenoid di daerah kulit terdapat perbedaan berdasarkan tempat partikel diproduksi dan disimpan. Berdasarkan hasil penelitian Zhang *et al.* (2021) struktur geometris dan jumlah melanosom sangat beragam dalam mengontrol produksi dan metabolisme melanin. Serta Fang *et al.* (2022) melaporkan bahwa warna kulit ikan bergantung pada jenis dan konsentrasi karotenoid di dalam kulit, berdasarkan oleh proses pengendapan dan penyerapan.

#### **4. Histologi**

Hasil analisis histologi (Gambar 21) pada penelitian ini menunjukkan bahwa melanofor terdistribusi pada bagian epidermis dan dermis. Xantofor tidak terlihat dalam metode pewarnaan HE dikarenakan karotenoid bersifat hidrofobik yang mudah larut dalam lemak sehingga diduga larut dalam proses dehidrasi. Proses dehidrasi adalah langkah dalam persiapan sampel histologi dimana air dikeluarkan dari jaringan dengan menggunakan pelarut organik bertingkat. Dehidrasi yang ekstensif atau tidak tepat dapat mengakibatkan hilangnya komponen seluler seperti pigmen dari jaringan ini (Sheng *et al.*, 2021). Namun secara umumnya berdasarkan distribusi pigmen (Gambar 21) penempatan pigmen terlihat xantofor berada diatas, melanofor ditengah, dan iridofor paling bawah. Distribusi sel pigmen di daerah garis hipodermis ikan zebra menghasilkan hasil penelitian Hirata *et al.* (2003) menunjukkan bahwa xantofor berada pada lapisan atas diikuti dengan melanofor dan iridofor (Gambar 22). Hal ini menghasilkan efek kontraks yang khas pada ikan nemo, dengan warna jingga/oranye cerah pada latar belakang hitam atau gelap. Distribusi pigmen pada ikan nemo memiliki variasi antara individu dan spesies. Penempatan xantofor dan melanofor dapat memainkan peran dalam keseimbangan antara adaptasi lingkungan dan fungsionalitas seperti kamuflase, komunikasi, atau perlindungan dari pemangsa (Yan *et al.*, 2013).



Gambar 22. Distribusi sel pigmen daerah dermis dan hipodermis (Hirata *et al.*, 2003)

Produksi melanin tidak bergantung pada karotenoid untuk menghasilkan warna hitam mereka dapat terdeteksi dalam integumen. Sel melanofor mampu mengubah intensitas warna kulit ikan dengan mengendalikan beberapa melanin yang diproduksi dan didistribusikan ke dalam kulit. Pada beberapa ikan, pergerakan dan penumpukan melanofor dapat menghasilkan pola-pola seperti garis-garis dan bintik-bintik (Skold *et al.*, 2016). Melanofor dan xantofor dapat berinteraksi untuk menciptakan warna yang lebih kompleks. Melanin dari melanofor dapat menutupi pigmen xantofor mengubah warna asli xantofor menjadi lebih gelap. Sebaliknya, jika melanin yang dihasilkan oleh melanofor terdistribusi dengan sedikit intensitas warna asli xantofor akan lebih terlihat (Salis *et al.*, 2019).

## 5. Fisika Kimia Air

Salah satu faktor yang dapat menurunkan warna morfologi pada ikan nemo adalah lingkungan yakni suhu, pH, salinitas, dan DO. Menurut Vissio *et al.* (2021) menyatakan bahwa penurunan warna pada ikan merupakan respons terhadap faktor lingkungan yang mana dapat mengakibatkan ikan stres terhadap kondisi tertentu. Pada saat suhu media pemeliharaan terjadi fluktuasi dapat memengaruhi aktivitas enzim dan reaksi kimia dalam tubuh ikan yang dapat berdampak pada pembentukan pigmen (Marova *et al.*, 2011; Mugwanya *et al.*, 2022). Konsentrasi oksigen terlarut rendah juga dapat memengaruhi sistem pernafasan dan metabolisme ikan (Chien *et al.*, 2005). pH air mengindikasikan apakah air bersifat asam, netral, atau basa. Perubahan pH yang tiba-tiba atau ekstrem dapat menyebabkan perubahan dalam distribusi pigmen di kulit ikan. Beberapa spesies ikan lebih cenderung mengalami perubahan warna pada pH

tertentu (Pietoyo *et al.*, 2020). Salinitas media pemeliharaan saling berkaitan dengan suhu, dimana suhu yang tinggi dapat meningkatkan salinitas (Pratiwi *et al.*, 2022). Salinitas berpengaruh terhadap tekanan osmotik air. Semakin tinggi salinitas, semakin tinggi osmotik air, sehingga akan mempengaruhi tingkat penggunaan energi (Bonanno *et al.*, 2021). Selama pemeliharaan pemberian pakan sedikit sehingga berkurangnya produk metabolisme dan sisa pakan yang akan menumpuk pada wadah pemeliharaan.

## **VI. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Penambahan karotenoid ekstrak tomat ke pakan ikan mempengaruhi kandungan karotenoid total dan distribusi xantofor pada kulit ikan nemo, tetapi tidak mempengaruhi ukuran xantofor (berkaitan dengan perkembangan xantofor).
2. Dosis optimum karotenoid ekstrak tomat dalam meningkatkan total kadar karotenoid pada kulit ikan nemo adalah 1,5 %.

### **B. Saran**

Diharapkan dilakukan penelitian lanjutan terkait bagaimana mekanisme pembentukan dan perkembangan xantofor. Bagaimana mekanisme dan faktor yang mengatur perubahan atau peralihan warna pada kulit ikan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ahi, E. P., Lecaudey, L. A., Ziegelbecker, A., Steiner, O., Glabonjat, R., Goessler, W., Hois, V., Wagner, C., Lass, A., & Sefc, K. M. (2020). Comparative Transcriptomics Reveals Candidate Carotenoid Color Genes in an East African Cichlid Fish. *BMC Genomics*, 21(1), 1–15.
- Akter, M. K., Motalab, M., Zubair, M. A., Haque, M. Z., Saha, B. K., & Mumtaz, B. (2020). Isolation and Quantification of Lycopene and Determination of B-Carotene and Total Phenolic Contents from Tomato (*Lycopersicon Esculentum*) by using Various Methods. *Int J Food Sci Nutr Diet*, 9(1), 442–447.
- Alfakih, A., Watt, P. J., & Nadeau, N. J. (2022). The Physiological Cost of Colour Change: Evidence, Implications and Mitigations. *Journal of Experimental Biology*, 225(10), jeb210401.
- Ardyanti, N. K. N. T., Suhendra, L., & Puta, G. G. (2020). Pengaruh Ukuran Partikel dan Lama Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Virgin Coconut Oil Wortel (*Daucus carota* L.) sebagai Pewarna Alami. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri ISSN*, 8(3), 423-433
- Bao, Y., Yu, Y., Xu, H., Guo, C., Li, J., Sun, S., Zhou, Z.-K., Qiu, C.-W., & Wang, X.-H. (2019). Full-Colour Nanoprint-Hologram Synchronous Metasurface With Arbitrary Hue-Saturation-Brightness Control. *Light: Science & Applications*, 8(1), 95.
- Bolker, J. A., & Hill, C. R. (2000). Pigmentation Development In Hatchery-Reared Flatfishes. *Journal of Fish Biology*, 56(5), 1029–1052.
- Bonanno, J. A., Breen, N. E., Tlusty, M. F., Andrade, L., & Rhyne, A. L. (2021). The Determination Of Thiocyanate In The Blood Plasma And Holding Water Of *Amphiprion Clarkii* After Exposure To Cyanide. *PeerJ*, 9, e12409.
- Cal, L., Suarez-Bregua, P., Braasch, I., Irion, U., Kelsh, R., Cerdá-Reverter, J. M., & Rotllant, J. (2019). Loss-of-function Mutations In The Melanocortin 1 Receptor Cause Disruption Of Dorso-Ventral Countershading In Teleost Fish. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 32(6), 817–828.
- Cal, L., Suarez-Bregua, P., Moran, P., Cerdá-Reverter, J. M., & Rotllant, J. (2018). Fish Pigmentation. A Key Issue For The Sustainable Development Of Fish Farming. In *Emerging Issues in Fish Larvae Research* (pp. 229–252). Springer.
- Camacho, F., Macedo, A., & Malcata, F. (2019). Potential Industrial Applications And Commercialization Of Microalgae In The Functional Food and Feed Industries: A Short Review. *Marine Drugs*, 17(6), 312.
- Chambel, J., Severiano, V., Baptista, T., Mendes, S., & Pedrosa, R. (2015). Effect of Stocking Density and Different Diets on Growth of *Percula Clownfish*, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802). *Springerplus*, 4(1), 1–7.
- Chapman, F. A., & Miles, R. D. (2018). How Ornamental Fish Get Their Color. *EDIS*, 5(3), 192.

- Chien, Y. H., & Shiau, W. C. (2005). The Effects of Dietary Supplementation of Algae and Synthetic Astaxanthin on Body Astaxanthin, Survival, Growth, and Low Dissolved Oxygen Stress Resistance of Kuruma Prawn, *Marsupenaeus japonicus* Bate. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 318(2), 201-211.
- D'Alba, L., & Shawkey, M. D. (2019). Melanosomes: Biogenesis, Properties, and Evolution of an Ancient Organelle. *Physiological Reviews*, 99(1), 1–19.
- Das, A. P., & Biswas, S. P. (2016). Carotenoids and Pigmentation in Ornamental Fish. *Journal of Aquaculture and Marine Biology*, 4(4), 00093.
- Dewi, E. S. (2018). Isolasi Likopen dari Buah Tomat (*Lycopersicum Esculentum*) dengan Pelarut Heksana. *Jurnal Agrotek Ummat*, 5(2), 123–126.
- Díaz-Jiménez, L., Hernández-Vergara, M. P., Pérez-Rostro, C. I., & Olvera-Novoa, M. Á. (2021). The Effect of Two Carotenoid Sources, Background Colour and Light Spectrum on The Body Pigmentation of The Clownfish *Amphiprion ocellaris*. *Aquaculture Research*, 52(7), 3052–3061.
- Diantika, F., Sutan, S. M., & Yulianingsih, R. (2014). Pengaruh Lama Ekstraksi dan Konsentrasi Pelarut Etanol terhadap Ekstraksi Antioksidan Biji Kakao (*Theobroma cacao l.*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(3), 159-164.
- Djurđjevič, I., Kreft, M. E., & Sušnik Bajec, S. (2015). Comparison of Pigment Cell Ultrastructure and Organisation in The Dermis of Marble Trout and Brown Trout, and first Description of Erythrophore Ultrastructure in Salmonids. *Journal of Anatomy*, 227(5), 583–595.
- Doughty, K. H., Garner, S. R., Bernards, M. A., Heath, J. W., & Neff, B. D. (2019). Effects Of Dietary Fishmeal Substitution With Corn Gluten Meal And Poultry Meal On Growth Rate and Flesh Characteristics of Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *International Aquatic Research*, 11(4), 325–334.
- Dwicahyani, T., Sumardianto, S., & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas Ekstrak Teripang Keling Holothuria Atra sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 15-2
- Ebenezzar, S., Prabu, D. L., Chandrasekar, S., Tejpal, C. S., Madhu, K., Sayooj, P., & Vijayagopal, P. (2020). Evaluation of Dietary Oleoresins on The Enhancement of Skin Coloration and Growth In The Marine Ornamental Clown Fish, *Amphiprion Ocellaris* (Cuvier, 1830). *Aquaculture*, 529, 735728.
- Ekajono, H. A. W., & Mustika, M. (2020). Identification of Freshness of Marine Fish Based on Image of Hue Saturation Value and Morphology. *Editorial Board*, 6(1), 2502-3470.
- Fang, W., Huang, J., Li, S., & Lu, J. (2022). Identification of Pigment Genes (Melanin, Carotenoid and Pteridine) Associated with Skin Color Variant in Red Tilapia Using Transcriptome Analysis. *Aquaculture*, 547, 737429.
- García-Chavarría, M., & Lara-Flores, M. (2013). The Use of Carotenoid in Aquaculture. *Research Journal of Fisheries and Hydrobiology*, 8(2), 38–49.

- Gedi, M. A., Magee, K. J., Darwish, R., Eakpetch, P., Young, I., & Gray, D. A. (2019). Impact of The Partial Replacement of Fish Meal With A Chloroplast Rich Fraction On The Growth And Selected Nutrient Profile Of Zebrafish (*Danio rerio*). *Food & Function*, 10(2), 733–745.
- Ghosh, S., Kumar, T. A., Vinoth, R., Balasubramanian, T., Dabbagh, A. R., & Keshavarz, M. (2011). Effect of Short-Term Enrichment Of Wild Zooplankton On Survival Of Larval Maroon Clownfish (*premna biaculeatus*). *Middle-East Journal of Scientific Research*, 7(5), 674–677.
- Gopakumar, G. (2006). Culture of Marine Ornamental Fishes with Reference to Production Systems, Feeding and Nutrition. International Seminar on Ornamental Fish Breeding, *Cochin*. 5(6), 61-70.
- Guo, H., Huang, B., Qi, F., & Zhang, S. (2007). Distribution and Ultrastructure of Pigment Cells In The Skins Of Normal And Albino Adult Turbot, *Scophthalmus maximus*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 25(2), 199–208.
- Güroy, B., Şahin, İ., Mantoğlu, S., & Kayalı, S. (2012). Spirulina as a Natural Carotenoid Source on Growth, Pigmentation and Reproductive Performance of Yellow Tail Cichlid *Pseudotropheus acei*. *Aquaculture International*, 20, 869–878.
- Güroy, D., Karadal, O., Mantoğlu, S., Kuşku, H., & Güroy, B. (2022). Color Intensity and Growth Performance of Common Clownfish (*Amphiprion ocellaris*) Enhanced by Dietary Spirulina (*Arthrospira platensis*). *Aquaculture International*, 30(4), 1855–1868.
- Grether, G. F., Kolluru, G. R., & Nersissian, K. (2004). Individual Colour Patches as Multicomponent Signals. *Biological Reviews*, 79(3), 583-610.
- Hambali, M., & Noermansyah, F. (2015). Ekstraksi Antosianin dari Ubi Jalar dengan Variasi Konsentrasi Solven, dan Lama Waktu Ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(2).
- Hamre, L. A., Oldham, T., Oppedal, F., Nilsen, F., & Glover, K. A. (2021). The Potential For Cleaner Fish-Driven Evolution in The Salmon Louse *Lepeophtheirus salmonis*: Genetic or Environmental Control of Pigmentation? *Ecology and Evolution*, 11(12), 7865–7878.
- Haridas, H., Saravanan, K., Praveenraj, J., Sontakke, R., Gladston, Y., Ajina, S. M., Prakasan, S., Sankar, R. K., & Roy, S. D. (2019). *Training Manual on Freshwater Ornamental Fish Breeding and Aquascaping Techniques*. Icar-Ciari, Port Blair, India. 39 pp.
- Harrison, E. H. (2012). Mechanisms Involved In The Intestinal Absorption of Dietary Vitamin A and Provitamin A carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1821(1), 70–77.
- Hasanah, U., Damayanti, A. A., & Azhar, F. (2020). Pengaruh Laju Pemuasaan Secara Periodik Terhadap Pertumbuhan Kelangsungan Hidup dan Kecerahan Warna Ikan Badut *Amphiprion ocellaris*. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(1), 46–53.
- Hashimoto, H., Goda, M., & Kelsh, R. N. (2021). Pigment Cell Development In Teleosts. *Pigments, Pigment Cells and Pigment Patterns*, 209–246.

- Hirata, M., Nakamura, K., Kanemaru, T., Shibata, Y., & Kondo, S. (2003). Pigment Cell Organization In The Hypodermis Of Zebrafish. *Developmental Dynamics: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 227(4), 497–503.
- Hou, Y., Wang, L., Jin, Y., Guo, R., Yang, L., Li, E., & Zhang, J. (2022). Triphenyltin Exposure Induced Abnormal Morphological Colouration in Adult Male Guppies (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 242, 113912.
- Jintasataporn, O., & Yuangsoi, B. (2012). Stability of Carotenoid Diets During Feed Processing and Under Different Storage Conditions. *Molecules*, 17(5), 5651–5660.
- Jorjani, M., Sharifroohani, M., Gholampoor, E., & Mirzaei, M. R. (2023). The Effects of Marigold as Natural Carotenoids on Scale Chromatophores' Variations in Blue Gourami Under Different Stocking Densities. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 5 (2), 29–36.
- Ju, Z. Y., Deng, D.-F., Dominy, W. G., & Forster, I. P. (2011). Pigmentation of Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by Dietary Astaxanthin Extracted From *Haematococcus pluvialis*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42(5), 633–644.
- Kahby, I. A. (2023). *Sistem Integumen dan Sistem Gerak Ikan*.
- Kumar, A., Kumar, V., Gull, A., & Nayik, G. A. (2020). Tomato (*Solanum Lycopersicon*). *Antioxidants in Vegetables and Nuts-Properties and Health Benefits*, 2(10), 191–207.
- Kumar, S., Kumar, R., Diksha, Kumari, A., & Panwar, A. (2022). Astaxanthin: A super Antioxidant from Microalgae and Its Therapeutic Potential. *Journal Of Basic Microbiology*, 62(9), 1064–1082.
- Khajehdizaj, F. P., Taghizadeh, A., & Nobari, B. B. (2014). Effect of Feeding Microwave Irradiated Sorghum Grain on Nutrient Utilization, Rumen Fermentation and Serum Metabolites In Sheep. *Livestock Science*, 167, 161–170.
- Lalita, A., Lili, W., & Pratiwy, F. M. (2022). The Effect of Differences in the Addition of Astaxanthin and Several Sources of Natural  $\beta$ -carotene in Increasing Color Intensity of Koi Fish (*Cyprinus carpio* L.). *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 18(2), 38–47.
- Langi, P., Kiokias, S., Varzakas, T., & Proestos, C. (2018). Carotenoids: From plants to Food and Feed Industries. *Microbial Carotenoids*, 1852, 57–71.
- Liang, Y., Meyer, A., & Kratochwil, C. F. (2020). Neural Innervation as A Potential Trigger of Morphological Color Change and Sexual Dimorphism In Cichlid Fish. *Scientific Reports*, 10(1), 12329.
- Ligon, R. A., & McCartney, K. L. (2016). Biochemical Regulation of Pigment Motility In Vertebrate Chromatophores: A Review of Physiological Color Change Mechanisms. *Current Zoology*, 62(3), 237–252.
- Lim, K. C., Yusoff, F. M., Karim, M., & Natrah, F. M. (2023). Carotenoids Modulate Stress Tolerance and Immune Responses In Aquatic Animals. *Reviews in Aquaculture*, 15(2), 872–894.

- Liu, C., Liu, H., Zhu, X., Han, D., Jin, J., Yang, Y., & Xie, S. (2022). The Effects of Dietary *Arthrospira Platensis* on Oxidative Stress Response and Pigmentation in Yellow Catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Antioxidants*, 11(6), 1100.
- Luo, M., Lu, G., Yin, H., Wang, L., Atuganile, M., & Dong, Z. (2021). Fish Pigmentation and Coloration: Molecular Mechanisms and Aquaculture Perspectives. *Reviews in Aquaculture*, 13(4), 2395–2412.
- Maiti, M. K., Bora, D., Nandeesh, T. L., Sahoo, S., Adarsh, B. K., & Kumar, S. (2017). Effect of Dietary Natural Carotenoid Sources on Colour Enhancement of Koi carp, *Cyprinus carpio* L. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(4), 340–345.
- Makri, V., Feidantsis, K., Papadopoulos, D., Lattos, A., Georgoulis, I., Michaelidis, B., & Giantsis, I. A. (2021). Natural-Like Pigmentation In Cultured Fish Stocks, Not Only A Matter Of Nutrition. A Review Of Salmonidae and Sparidae Families, With A Particular Focus on the Red Porgy *Pagrus pagrus*. *Aquaculture Research*, 52(7), 2942–2953.
- Maleta, H. S., Indrawati, R., Limantara, L., & Brotosudarmo, T. H. P. (2018). Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid Dari Sumber Tumbuhan Dalam Dekade Terakhir (Telaah Literatur). *Jurnal Rekayasa Kimia & Lingkungan*, 13(1), 40–50.
- Manceau, M., Domingues, V. S., Mallarino, R., & Hoekstra, H. E. (2011). The Developmental Role of Agouti in Color Pattern Evolution. *Science*, 331(6020), 1062–1065.
- Mansour, A. T., El-Feky, M. M., El-Beltagi, H. S., & Sallam, A. E. (2020). Synergism of Dietary Co-Supplementation With Lutein and Bile Salts Improved The Growth Performance, Carotenoid Content, Antioxidant Capacity, Lipid Metabolism, and Lipase Activity of the Marbled Spinefoot Rabbitfish, *Siganus Rivulatus*. *Animals*, 10(9), 1643.
- Maoka, T. (2020). Carotenoids as Natural Functional Pigments. *Journal of Natural Medicines*, 74(1), 1–16.
- Mappiratu, M., Nurhaeni, N., & Israwaty, I. (2010). Pemanfaatan Tomat Afkiran untuk Produksi Likopen. *Media Litbang Sulteng*, 3(1).
- Marudhupandi, T., Dhayanithi, N. B., Jeyaprakashsabri, S., Deepa, S. D., & Kumar, T. T. A. (2022). Effect of Lipid Supplementation, Using Oil Extracted from *Nannochloropsis Salina* on Growth Indices and Expression of Gene Associated Lipid Metabolism in Clownfish, *Amphiprion ocellaris*. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1(9), 1–10.
- Marova, I., Certik, M., & Breierova, E. (2011). Production of enriched biomass by carotenogenic yeasts-application of whole-cell yeast biomass to production of pigments and other lipid compounds. *Biomass-detection, production and usage*, 345-384.
- Maytin, A. K., Davies, S. W., Smith, G. E., Mullen, S. P., & Buston, P. M. (2018). De novo Transcriptome Assembly of the Clown Anemonefish (*Amphiprion percula*): A new Resource to Study the Evolution of Fish Color. *Frontiers in Marine Science*, 5(15), 284.

- Meléndez-Martínez, A. J. (2019). An overview of carotenoids, Apocarotenoids, and Vitamin A In Agro-Food, Nutrition, Health, and Disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 63(15), 1801045.
- Mendelová, A., Fikselová, M., & Mendel, L. (2013). Carotenoids and Lycopene Content In Fresh and Dried Tomato Fruits and Tomato Juice. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 61(5), 1329–1337.
- Merhan, O. (2017). *The Biochemistry and antioxidant Properties of Carotenoids*. Carotenoids, Mirena Calmic, Croticia. 5,(9), 51.
- Micah, A. D., Wen, B., Wang, Q., Zhang, Y., Yusuf, A., Thierry, N. N. B., Tokpanou, O. S., Onimisi, M. M., Adeyemi, S. O., & Gao, J.-Z. (2022). Effect of Dietary Astaxanthin On Growth, Body Color, Biochemical Parameters And Transcriptome Profiling Of Juvenile Blood Parrotfish (*Vieja melanurus*♀ $\times$ *Amphilophus citrinellus*♂). *Aquaculture Reports*, 24, 101142.
- Miryanti, Y. A., Sapei, L., Budiono, K., & Indra, S. (2011). Ekstraksi antioksidan dari kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Research Report-Engineering Science*, 2.
- Mugwanya, M., Dawood, M. A., Kimera, F., & Sewilam, H. (2022). Anthropogenic temperature fluctuations and their effect on aquaculture: A comprehensive review. *Aquaculture and Fisheries*, 7(3), 223-243.
- Moore, B., Herrera, M., Gairin, E., Li, C., Miura, S., Jolly, J., Mercader, M., Izumiyama, M., Kawai, E., & Ravasi, T. (2023). The Chromosome-Scale Genome Assembly Of the Yellowtail clownfish *Amphiprion Clarkii* Provides Insights Into The Melanic Pigmentation of Anemonefish. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 13(3), jkad002.
- Morais, M. A. (2019). Feeding Strategies to Improve Growth in Clownfish Juveniles (*Amphiprion ocellaris*). In *Masters in Aquaculture and Fisheries*. The University of Algarve. (p. 53)
- Nakano, T., & Wiegertjes, G. (2020). Properties of Carotenoids in Fish Fitness: a Review. *Marine Drugs*, 18(11), 568
- Navarro, R. E., Ramos-Balderas, J. L., Guerrero, I., Pelcastre, V., & Maldonado, E. (2008). Pigment Dilution Mutants From Fish Models with Connection to Lysosome-Related Organelles and Vesicular Traffic Genes. *Zebrafish*, 5(4), 309–318.
- Nhan, H. T., Minh, T. X., Liew, H. J., Hien, T. T. T., & Jha, R. (2019). Effects of Natural Dietary Carotenoids on Skin Coloration of False Clownfish (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830). *Aquaculture Nutrition*, 25(3), 662–668.
- Ninwichian, P., Chookird, D., & Phuwan, N. (2020). Effects of Dietary Supplementation With Natural Carotenoid Sources on Growth Performance and Skin Coloration of Fancy Carp, *Cyprinus carpio* L. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 19(1), 167–181.
- Nüsslein-Volhard, C., & Singh, A. P. (2017). How Fish Color Their Skin: A paradigm For Development And Evolution Of Adult Patterns: Multipotency, Plasticity, and Cell Competition Regulate Proliferation and Spreading of Pigment Cells in zebrafish coloration. *BioEssays*, 39(3), 1600231.

- Pailan, G. H., Sahoo, S., & Singh, D. K. (2019). Role of Carotenoids in Ornamental Fish Nutrition: A Review. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 36(3), 218–227.
- Pereira da Costa, D., & Campos Miranda-Filho, K. (2020). The Use of Carotenoid Pigments as Food Additives for Aquatic Organisms and Their Functional Roles. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1567–1578.
- Pietoyo, A., Hidayat, K. W., Nurazizah, S., Arifin, I. F. Z., Prabowo, D. G., Widiyanto, F. T., & Mustakim, I. (2020). The Effect of Stocking Density on the Growth of Ocellaris Clownfish (*Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830) With Recirculation. *Journal of Aquaculture and Fish Health*, 9(3), 189–193.
- Pinela, J., Oliveira, M., & Ferreira, I. (2016). Bioactive Compounds of Tomatoes as Health Promoters. *Natural Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables*, 2(3), 48–91.
- Putra, A. N., Yuaninda, A., Anarki, S. B., Syamsunarno, M. B., Mustahal, M., Hermawan, D., & Herjayanto, M. (2020). Efek Penambahan Prebiotik Pada Pakan Berbasis Bahan Baku Lokal Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Dan Kecernaan Pakan Ikan Nila *Oreochromis niloticus*. *Leuit (Journal of Local Food Security)*, 1(1), 1–7.
- Pratiwi, R., Mulyono, M., Saputra, A., Farkan, M., Samsuharapan, S. B., & Panjaitan, A. S. (2022). Enhancement of Color Brightness on Clown Fish (*Amphiprion percula*) With Addition of Tomato Powder Extract. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 20(6), 117–124.
- Rahmani, A. F., Mubarak, S., Soleh, M. A., & Prawiranegara, B. M. P. (2021). Evaluasi Kualitas Nutrisi Microgreen Bayam Merah Dan Hijau Menggunakan Cahaya Buatan. *Kultivasi*, 20(3), 168–174.
- Rebelo, B. A., Farrona, S., Ventura, M. R., & Abranches, R. (2020). Canthaxanthin, a Red-Hot Carotenoid: Applications, synthesis, and Biosynthetic Evolution. *Plants*, 9(8), 1039.
- Reboul, E. (2013). Absorption of vitamin A and carotenoids by the enterocyte: focus on transport proteins. *Nutrients*, 5(9), 3563–3581.
- Renko, G., Djurdjevič, I., & Sušnik Bajec, S. (2022). Isolation of Chromatophores from Brown Trout (*Salmo trutta*) Skin. *Fishes*, 7(2), 72.
- Riaz, M., Zia-Ul-Haq, M., & Dou, D. (2021). Chemistry of Carotenoids. *Carotenoids: Structure and Function in the Human Body*, 2, 43–76.
- Sales, J., & Janssens, G. P. (2003). Nutrient Requirements Of Ornamental Fish. *Aquatic Living Resources*, 16(6), 533–540.
- Salis, P., Lorin, T., Laudet, V., & Frédérick, B. (2019). Magic Traits In Magic Fish: Understanding Color Pattern Evolution Using Reef Fish. *Trends in Genetics*, 35(4), 265–278.
- Salis, P., Lorin, T., Lewis, V., Rey, C., Marcionetti, A., Escande, M.-L., Roux, N., Besseau, L., Salamin, N., & Sémon, M. (2019). Developmental and Comparative Transcriptomic Identification of Iridophore Contribution to White Barring in Clownfish. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 32(3), 391–402.

- Salles, O. C., Almany, G. R., Berumen, M. L., Jones, G. P., Saenz-Agudelo, P., Srinivasan, M., Thorrold, S. R., Pujol, B., & Planes, S. (2020). Strong Habitat and Weak Genetic Effects Shape the Lifetime Reproductive Success In A Wild Clownfish Population. *Ecology Letters*, 23(2), 265–273.
- Sari, W., Okavia, I. W., Ceriana, R., & Sunarti, S. (2017). Struktur Mikroskopis Hati Ikan Seurukan (*Osteochilus vittatus*) dari Sungai Krueng Sabee Kabupaten Aceh Jaya yang Tercemar Limbah Penggilingan Bijih Emas. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi Dan Kependidikan*, 4(1), 33–40.
- Sartikawati, S., Junaidi, M., & Damayanti, A. A. (2020). Efektivitas Penambahan Tepung Buah Labu Kuning Pada Pakan Ikan Terhadap Peningkatan Kecerahan Dan Pertumbuhan Ikan Badut (*Amphiprion ocellaris*). *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 13(1), 24–35.
- Schmeisser, J., Verlhac-Trichet, V., Madaro, A., Lall, S. P., Torrissen, O., & Olsen, R. E. (2021). Molecular Mechanism Involved in Carotenoid Metabolism in Post-Smolt Atlantic Salmon: Astaxanthin Metabolism During Flesh Pigmentation and Its Antioxidant Properties. *Marine Biotechnology*, 23(4), 653–670.
- Setiawati, W., Murtiningsih, R., Sopha, G. A., & Handayani, T. (2007). *Petunjuk Teknis Budidaya Tanaman Sayuran*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran. 135.
- Setyawati, E., Rahayuningsih, C. K., & Haryanto, E. (2019). Korelasi Kadar Likopen Dengan Aktivitas Antioksidan Pada Buah Semangka (*Citrullus Lanatus*) dan Tomat (*Lycopersicum esculentum*). *Analisis Kesehatan Sains*, 8(2). 717-724.
- Shekarabi, S. P. H., Omid, A. H., Dawood, M. A., Adel, M., Avazeh, A., & Heidari, F. (2020). Effect of Black Mulberry Powder on Growth Performance, Biochemical Parameters, Blood Carotenoid Concentration, and Fillet Color of Rainbow Trout. *Annals of Animal Science*, 20(1), 125–136.
- Sheng, J., Guan, L., Sheng, B., Geng, S., Wu, D., Hu, B., Li, Z., Le, S., & Hong, Y. (2022). Analysis of Pigment Cell Composition, Pigment Content, Tyrosinase Content and Activity of Three Kinds of Loaches *Misgurnus anguillicaudatus* from Poyang Lake. *Journal of Fish Biology*, 100(2), 366–377.
- Shofi, M., Suwitasari, F., & Istiqomah, N. (2020). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kamboja jepang (*Adenium obesum*) dan kamboja putih (*Plumeria acuminata*). *Al-Kaunyah J Biol*, 13(2), 167–178.
- Sinha, A. (2022). Pigmentation in Fishes. In *Advances in Fisheries Biotechnology*. Singapore: Springer Nature Singapore pp. 245–261.
- Sköld, H. N., Aspengren, S., Cheney, K. L., & Wallin, M. (2016). Fish Chromatophores—From Molecular Motors to Animal Behavior. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 321, 171–219.
- Stahl, W., & Sies, H. (2003). Antioxidant Activity of Carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6), 345–351.
- Sušnik Bajec, S., Djurdjevič, I., Linares Andujar, C., & Kreft, M. E. (2022). Genetic and Correlative Light and Electron Microscopy Evidence for The Unique Differentiation Pathway of Erythrophores In Brown Trout Skin. *Scientific Reports*, 12(1), 1015.



- Teimouri, M., Amirkolaie, A. K., & Yeganeh, S. (2013). The effects of Dietary Supplement Of Spirulina Platensis on Blood Carotenoid Concentration And Fillet Color Stability In Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 414, 224–228.
- Tian, X., Peng, N., Ma, X., Wu, L., Shi, X., Liu, H., Song, H., Wu, Q., Meng, X., & Li, X. (2022). MicroRNA-430b Targets Scavenger Receptor Class B member 1 (scarb1) and Inhibits Coloration and Carotenoid Synthesis in Koi Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 546, 737334.
- Tiewsoh, W., Singh, E., Nath, R., Surnar, S. R., & Priyadarshini, A. (2019). Effect of Carotenoid in Growth and Colour Enhancement in Gold Fish, *Carassius auratus* (L.). *Journal of Experimental Zoology*, 22(2), 765–771.
- Toomey, M. B., Marques, C. I., Araújo, P. M., Huang, D., Zhong, S., Liu, Y., Schreiner, G. D., Myers, C. A., Pereira, P., & Afonso, S. (2022). A Mechanism for Red Coloration in Vertebrates. *Current Biology*, 32(19), 4201–4214.
- Tran, D. V., Dang, T. T., Cao, T. T., Hua, N. T., & Pham, H. Q. (2022). Natural astaxanthin Extracted from Shrimp Waste for Pigment Improvement in The Orange Clownfish, *Amphiprion percula*. *Aquaculture Research*, 53(11), 4190–4198.
- Vissio, P. G., Darias, M. J., Di Yorio, M. P., Sirkin, D. I. P., & Delgadin, T. H. (2021). Fish Skin Pigmentation in Aquaculture: The Influence of Rearing Conditions and its Neuroendocrine Regulation. *General and Comparative Endocrinology*, 301, 113662.
- Wu, K., Cleveland, B. M., Portman, M., Sealey, W. M., & Lei, X. G. (2020). Supplemental Microalgal DHA and astaxanthin Affect Astaxanthin Metabolism and Redox Status of Juvenile Rainbow trout. *Antioxidants*, 10(1), 16.
- Yan, B., Liu, B., Zhu, C.-D., Li, K.-L., Yue, L.-J., Zhao, J.-L., Gong, X.-L., & Wang, C.-H. (2013). MicroRNA Regulation of Skin Pigmentation in fish. *Journal of Cell Science*, 126(15), 3401–3408.
- Yanar, M., Erçen, Z., Hunt, A. Ö., & Büyükçapar, H. M. (2008). The Use of Alfalfa, Medicago Sativa as a Natural Carotenoid Source in Diets of goldfish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 284(1–4), 196–200.
- Yasir, I., & Qin, J. G. (2009). Effect of Light Intensity on Color Performance of False Clownfish, *Amphiprion ocellaris* Cuvier. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(3), 337–350.
- Zhang, Y., Wang, T., Zhang, X., Wei, Y., Chen, P., Zhang, S., Guo, Z., Xiong, Y., Jiang, J., & Huang, X. (2022). Observation of body Colour Formation and Pigment Cells in Grey-Black and Golden *Paramisgurnus dabryanus*. *Aquaculture Research*, 53(7), 2657–2669.
- Zhao, T., Yan, X., Sun, L., Yang, T., Hu, X., He, Z., Liu, F., & Liu, X. (2019). Research progress on extraction, biological activities and delivery systems of natural astaxanthin. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 354–361.
- Zia-UI-Haq, M. (2021). Historical and introductory aspects of carotenoids. *Carotenoids: Structure and Function in the Human Body*, pp 1–42.

Zutshi, B., & Madiyappa, R. (2020). Impact of Lantana camara, A Carotenoid Source, on Growth and Pigmentation in Koi swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 13(1), 286–295.

## LAMPIRAN

- **Lampiran 1.** Prosedur kerja ekstrak tomat

Alat-alat yang digunakan sebagai berikut :

1. Erlenmeyer 250 mL
2. Beaker glass 500 mL
3. Topes besar 1000 mL
4. Botol sampel 1000 mL
5. Timbangan analitik
6. Gelas ukur 10 mL
7. Corong kaca
8. Blender
9. Oven
10. Rotary evaporator

Bahan – bahan yang digunakan sebagai berikut :

1. Tomat
2. Larutan aseton
3. Kertas saring
4. Kertas label
5. Aluminium foil
6. Tissue

Prosedur kerja sebagai berikut:

1. Buah tomat yang sudah dibersihkan ditimbang kemudian dibelah menjadi 2 bagian agar mempermudah mengeluarkan bijinya. jika sudah bersih dilakukan penimbangan kembali. Tomat ditata rapi diatas talenan yang sudah dialasi aluminium foil. Kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu 65 °C
2. Tomat yang sudah kering di blender hingga halus. Diayak agar mendapatkan tepung tomat
3. Tepung tomat di timbang sebanyak 250 gr di masukkan kedalam toples yang sudah dibungkus dengan aluminium foil kemudian dilarutkan dengan larutan aseton dengan perbandingan (1:4 b/v) selama 24 jam.
4. Setiap sejam sekali dilakukan pengadukan.

5. Setelah 24 jam dilakukan pemisahan ekstrak dan rafinat menggunakan corong kaca yang telah dilapisi dengan kertas saring kemudian diuapkan dengan rotary evaporator selama 3 jam dengan suhu 50 °C
6. Hasil ekstrak disimpan pada suhu 0 – 4 °C .

Dokumentasi sebagai berikut:



Pemisahan tomat dengan bijinya



Pengeringan di oven (60 °C)



Tepung tomat



Proses maserasi



Pemisahan ekstrak dengan rafinat



Ekstrak kasar



Evaporasi



Ekstrak tomat

• **Lampiran 2.** Prosedur kerja analisis karotenoid ekstraksi tomat

Alat-alat yang digunakan sebagai berikut :

1. Timbangan analit
2. Gelas ukur 10 mL
3. Tabung reaksi kaca 15 mL
4. Vortex
5. *Centrifuge*
6. Spektrofotometer

Bahan-bahan yang digunakan sebagai berikut :

1. Tepung tomat
2. Larutan aseton
3. Aluminium foil

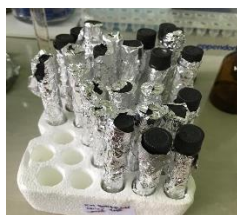
Prosedur kerja sebagai berikut:

1. Tepung tomat di timbang sebanyak 2 gr di masukkan kedalam gelas ukur yang sudah dibungkus dengan aluminium foil kemudian dilarutkan dengan larutan aseton dengan perbandingan (1:5 b/v) selama 24 jam.
2. Setelah 24 jam, di sentrifuse untuk memisahkan cairan dengan partikelnya.
3. Analisis karotenoid menggunakan spektrofometer.

Dokumentasi sebagai berikut:



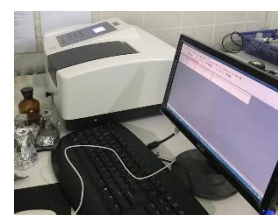
Penimbangan  
sampel



Perendaman



Sentrifuse



Absorbansi

- **Lampiran 3.** Prosedur kerja persiapan pakan uji dan penerapannya

Alat-alat yang digunakan sebagai berikut :

1. Timbangan analit
2. Spuit 1 mL
3. Wadah kecil yang dilengkapi penutup

Bahan-bahan yang digunakan sebagai berikut :

1. Ekstrak tomat
2. DMSO 10%
3. Putih telur

Prosedur kerja sebagai berikut:

1. Ekstrak tomat dan pellet ditimbang sesuai dengan dosis yang telah ditentukan.
2. Ekstrak tomat dilarutkan dengan larutan DMSO 10 %.
3. Ekstrak tomat yang telah dilarutkan dengan DMSO 10% dicampur ke pellet dengan cara menggoyangkan wadah pakan.
4. Pelebelan sesuai dengan dosis yang ditentukan.
5. Pemberian putih telur 10% yang telah diencerkan diberikan ke pakan 1 jam sebelum pemberian ke ikan dengan cara penyemprotan.

Dokumentasi sebagai berikut:



Penimbangan pellet



Penimbangan ekstrak



DMSO 10%



Pakan uji

• **Lampiran 4** Prosedur kerja analisis karotenoid pakan ikan

Alat-alat yang digunakan sebagai berikut :

1. Timbangan analit
2. Gelas ukur 10 mL
3. Tabung reaksi kaca 15 mL
4. *Centrifuge*
5. Spektrofotometer

Bahan-bahan yang digunakan sebagai berikut :

1. Pellet ikan
2. Larutan aseton
3. Aluminium foil

Prosedur kerja sebagai berikut:

1. Pellet ikan yang telah ditambahkan karotenoid di timbang sebanyak 2 gr di masukkan kedalam gelas ukur yang sudah dibungkus dengan aluminium foil kemudian dilarutkan dengan larutan aseton dengan perbandingan (1:5 b/v) selama 24 jam.
2. Setelah 24 jam di sentrifuse untuk memisahkan cairan dengan partikelnya.
3. Analisis karotenoid menggunakan spektrofotometer.

**Lampiran 5.** Prosedur kerja karotenoid kulit ikan dan distribusi sel pigmen

Alat-alat yang digunakan sebagai berikut:

1. Timbangan analit
2. Gelas ukur 10 mL
3. Tabung reaksi kaca 15 mL
4. *Set alat bedah*
5. *Centrifuge*
6. Spektrofotometer

7. Mikroskop stereo discovery v.12.

Bahan-bahan yang digunakan sebagai berikut :

1. Pellet ikan
2. Larutan aseton
3. Aluminium foil

Prosedur kerja sebagai berikut:

1. Ikan dibedah bagian kulit perut, badan dan ekor dilakukan pengamatan dimikroskop untuk melihat distribusi pigmen. Kemudian penimbangan.
2. Kulit ikan yang sudah ditimbang dimasukkan ke botol sampel berwarna gelap dan dilarutkan larutan aseton, ekstraksi dibuat hingga 10 mL dengan aseton.
3. Sampel disimpan selama 24 jam pada suhu ruangan 40 °C.
4. Larutan tersebut disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit dan kemudian diukur serapannya dalam spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm.

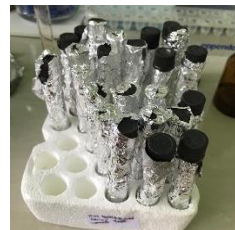
Dokumentasi sebagai berikut:



Kulit ikan bagian badan dan ekor



Penimbangan



Maserasi



Sentrifuse

• **Lampiran 6.** Prosedur kerja histologi

Prosedur kerja sebagai berikut:

1. Pengambilan kulit ikan

Pengambilan kulit ikan menggunakan pisau bedah no 13 dengan cara fillet. Daging yang masih menempel pada kulit ikan digerus hingga hilang.

## 2. Pembuatan preparat histologi

### Tahap fiksasi

- a. Kulit ikan diiris dengan ukuran  $0.5 \times 0.5 \text{ cm}^2$ .
- b. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan fiksatif (formalin 10%) selama  $\pm 24$  jam.

### Tahap dehidrasi

- a. Jaringan direndam dalam alkohol 70% selama  $\pm 24$  jam.
- b. Jaringan selanjutnya direndam dalam alkohol 80%, 95%, 100%, xylol + alkohol (3:1), xylol + alkohol (1:1), xylol masing-masing selama  $\pm 30$  menit.

### Tahap parafinasi

- a. Jaringan direndam dengan menggunakan paraffin xylol, paraffin I, paraffin II, paraffin III dalam oven suhu  $50-60 \text{ }^\circ\text{C}$  selama 30 menit.
- b. Selanjutnya tahap jaringan tersebut dilakukan embedding atau pengeblokan dengan memasukan jaringan dalam cetakan berisi paraffin cair.
- c. Jaringan kemudian didinginkan hingga mengeras dalam suhu kamar selama  $\pm 24$  jam.

### Tahap deparafinasi

- a. Blok paraffin yang berisi jaringan dipotong menggunakan microtome dengan ketebalan 5 mikron.
- b. Jaringan yang dipotong diletakan di air hangat untuk mencegah hasil pemotongan melengkung selanjutnya diletakan di atas gelas objek dan dikeringkan sampai jaringan menempel sempurna pada permukaan gelas objek.
- c. Preparat potongan jaringan dicelupkan secara berturut-turut pada larutan xylol, alkohol 100%, 95%, 80% dan 70% masing-masing selama  $\pm 5$  menit.
- d. Preparat potongan jaringan dicelupkan di dalam akuades selama 5 menit.

### Tahap pewarnaan

- a. Preparat potongan jaringan dicelupkan dalam pewarna haemotoksilin selama 5 -10 menit kemudian di bilas dengan air mengalir.
- b. Preparat potongan jaringan kemudian dicelupkan ke dalam eosin selama 5-10 menit lalu dibilas dengan air mengalir.