

## POTENSI PIGMEN ALAMI DARI BAKTERI SIMBION KARANG *Mantipora* sp SEBAGAI PEWARNA MAKANAN

[Potential of Pigment from Symbion Coral Bacteria *Mantipora* sp As a Food Color]

Dhanang Puspita<sup>1\*</sup>, Jacob L.A Uktolseja<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Tekpang FKIK Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga

<sup>\*)</sup> Biologi, FB Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga

\*Email: [dhanang.puspita@uksw.edu](mailto:dhanang.puspita@uksw.edu)

Diterima 9 September 2019 / Disetujui 06 Juli 2020

### ABSTRACT

Color is very important in the food industry. The need for food coloring requires manufacturers to use synthetic dyes that have the potential to cause poisoning and cancer. One source of natural dyes comes from bacteria that are symbiotic with coral reefs. The purpose of this study is to isolate and characterize the bacterial pigment that has symbiosis with *Montipora* sp. The research method consisted of bacterial isolation and identification, pigment identification with UV-Vis spectrophotometer (200 – 800 nm) and TLC. The results of isolation and identification showed that *Rhodococcus* sp is dominant bacterial which produces carotenoids for self defense from UV rays. The pigment found in *Rhodococcus* sp has the potential as a natural pigment for food coloring.

**Keywords:** carotenoids, *Montipora*, pigment, *Rhodococcus* sp.

### ABSTRAK

Warna sangat penting dalam industri pangan. Kebutuhan pewarna makanan menuntut produsen memakai bahan pewarna sintetik yang berpotensi menyebabkan keracunan dan kanker. Salah satu sumber pewarna alami berasal dari bakteri yang bersimbiosis dengan terumbu karang. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi dan mengkarakterisasi pigmen bakteri yang bersimbiosis *Montipora* sp. Metode penelitian terdiri dari isolasi dan identifikasi bakteri, identifikasi pigmen dengan spektrofotometer UV-Vis (200 – 800 nm) dan KLT. Hasil isolasi dan identifikasi bakteri berjenis *Rhodococcus* sp dan pigmen yang dihasilkan adalah karotenoid yang digunakan sebagai pertahanan diri dari sinar UV. Pigmen yang terdapat pada *Rhodococcus* sp berpotensi sebagai pigmen alami untuk pewarna pangan.

**Kata kunci:** karotenoid, *Montipora*, pigmen, *Rhodococcus* sp.

### PENDAHULUAN

Warna adalah kesan yang diperoleh mata dari pantulan cahaya-cahaya yang mengenai benda-benda. Benda-benda tersebut memiliki zat warna yang akan menyerap atau memantulkan panjang gelombang tertentu. Warna-warna yang dipantulkan inilah yang akan memberikan kesan sehingga, warna teramatlah penting dalam kehidupan. Dalam industri makanan dan minuman, warna adalah elemen penting dalam sebuah produk. Warna akan memberikan informasi dasar sebuah produk dan menentukan konsumen dalam memilih produk (Winarno, 2004). Begitu pentingnya warna sebagai BTP (Bahan Tambahan Pangan) acapkali tidak mengindahkan

keamanan pangan. Pewarna-pewarna sintesis yang tidak layak untuk dikonsumsi dijadikan BTP. Efek samping pewarna sintesis yang tidak langsung terasa menjadikan pemanfaatan pewarna sintesis ini dianggap hal yang lumrah.

Pewarna sintetik memberikan efek samping yang buruk bagi kesehatan. Potensi keracunan hingga ancaman kanker bisa terjadi jika tubuh terus menerus terpapar pewarna ini. Alasan pemanfaatan pewarna sintetik dibanding pewarna alami adalah tingkat kepraktisan, nilai ekonomis, dan kekuatan warna. Pewarna sintetik lebih mudah di peroleh dan murah, mudah pemakaian, dan praktis, serta memiliki warna yang kuat dibanding pewarna alami. Munculnya kesadaran masyarakat akan

pentingnya kesehatan berkaitan potensi gangguan kesehatan karena pewarna makanan, maka digalakan kembali penggunaan pewarna alami. Pewarna alami merupakan sumber pewarna yang berasal dari tumbuhan, hewan, alga, jamur, dan mikroorganisme. Pewarna alami terbukti lebih aman dibanding dengan pewarna sintetis (Puspita *et al.*, 2018).

Salah satu sumber pewarna alami adalah dari bakteri yang berasal dari terumbu karang. Asosiasi antara bakteri dan karang merupakan faktor penting bagi koloni karang sebagai penyedia nutrient untuk proses konversi cahaya menjadi energi kimia oleh *zooxanthellae*. Arini (2013) mengatakan bahwa material organik yang ada dalam koloni karang tersedia dalam jumlah yang melimpah sehingga memerlukan dekomposer yaitu bakteri pengurai.

*Montipora* sp adalah salah satu karang keras bertipe hermatipik yang menghasilkan senyawa bioaktif (Speed dan Thamattoor, 2002), yakni menghasilkan warna seperti ungu, merah muda, kuning, dan coklat. Keberadaan warna pada *Mantiopora* menjadi indikator keberadaan pigmen. Warna-warna yang ada di *Mantiopora* adalah senyawa biokatif yang disintesis oleh karang itu sendiri atau simbiannya. Keberadaan bakteri pada karang sangatlah penting karena berperan dalam proses degradasi dan penyedia material organik bagi inangnya. Radjasa *et al* (2007) menyatakan, simbion karang memiliki kemampuan yang sama dengan inangnya dalam menghasilkan senyawa biokatif dan salah satunya adalah pigmen. Pigmen yang ada di *Mantiopora* sp diduga terdapat bakteri yang mampu mensintesis warna yang sama dengan inangnya.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Wusqy *et al* (2014) dikatakan bakteri yang bersimbiosis dengan karang *Acropora* sp mampu menghasilkan warna yakni pigmen  $\beta$ -carotene. Warna-warni terumbu karang adalah ekspresi dari pigmen-pigmen yang disintesis. Pigmen-pigmen yang terdapat pada terumbu karang seperti karotenoid akan diekspresikan ke dalam warna merah, merah muda, dan kuning. Tujuan penelitian

ini untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi pigmen bakteri yang bersimbion *Montipora* sp.

## BAHAN DAN METODE

Sampel terumbu karang diperoleh dari Pulau Menjangan Kecil-Karimunjawa (koordinat;-5.8833, 110.4000) yang diambil di kedalaman 8 – 23 m pada 30 Agustus 2015 pukul 08.45. Kemudian sampel karang dihomogenisasai untuk proses pencuplikan bakteri. Bakteri yang sudah dicuplik kemudian diisolasi dan diidentifikasi DNA di PT. Genetika Science Indonesia. Pigmen pada bakteri dianalisis dengan spektrofotometer.

### Isolasi Bakteri (Radjasa et al., 2007)

Terumbu karang diambil dari kedalaman 8 – 23 m dengan penyelaman *scuba*. Sampel terumbu karang gerus dalam cawan porselin lalu diisolasi dalam medium zobell cair: ekstrak khamir (Oxoid) (0,5%) , pepton (Oxoid) (0,5%), glukosa (Merck) (1%) dan air laut steril (1.000 ml). Selama dalam perjalanan sampel karang dikondisikan dalam suhu dingin  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ . Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan medium zobell padat; 5 g pepton (Oxoid), 1 g ekstrak khamir (Oxoid), dan 15 g agar nutrien (Oxoid) dalam 1 liter air laut steril. Pencuplikan dilakukan alam inkass dengan menggunakan jarum ose yang ditempelkan pada sampel lalu digoreskan pada permukaan agar. Inkubasi isolat dilakukan dengan pemaparan dengan cahaya lampu putih dalam suhu ruang  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  selama 3 – 7 hari. Bakteri pembentuk pigmen ditandai dengan koloni yang berwarna. Koloni yang berwarna kemudian dicuplik dan dilakukan penapisan dalam medium isolasi hingga didapatkan koloni tunggal. Isolat murni dipindahkan dalam medium zobell dalam agar miring.

### Identifikasi Bakteri (Geneaid, 2017)

Bakteri simbion diidentifikasi dengan cara sebagai berikut:

1. Ekstraksi DNA menggunakan Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit (Geneaid);
2. Aplikasi PCR menggunakan MyTaq Red Mix (Bioline);
3. Pemurnian sampel PCR menggunakan Zymoclean™ Gel DNA Recovery Kit (Zymo Research);
4. Sekuensing dengan cara Bi-directional.

### Identifikasi Morfologi Bakteri (Fardiaz, 1989)

Pengamatan morfologi bakteri dilakukan dengan pengecatan gram. Pengetan gram dengan menggunakan Gram A (*crystal violet*), gram B (*Methyl Blue*), Gram C (alkohol 70%), dan gram D (*Safranin*). Setelah dilakukan pengecatan, kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1.600 ×.

### Ekstraksi Pigmen (Amaya, 2005)

Sebanyak 250 ml sampel bakteri yang ditumbuhkan pada media cair Zobell 2216E disentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Pellet yang mengendap dipindahkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan Acetone (Merck) : Methanol (Merck) dengan perbandingan 7 : 3 v/v. Sampel divorteks selama 1 menit. Cairan berwarna diambil kemudian dipindahkan ke tabung reaksi lainnya. Cairan berwarna disaring dengan menggunakan kertas whatman (Sartorius) dengan pori-pori 0,2 µm. Hasil saringan dikeringkan dengan menggunakan gas nitrogen. Sampel pigmen karotenoid yang sudah dikeringkan disimpan pada suhu -20°C hingga dilakukan analisis lanjutan.

### Analisis Pigmen (Amaya, 2005)

Sampel pigmen karotenoid dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis Varian Cary pada panjang gelombang 200–800 nm dengan menggunakan pelarut aseton (Merck).

### KLT Pigmen (Amaya, 2005)

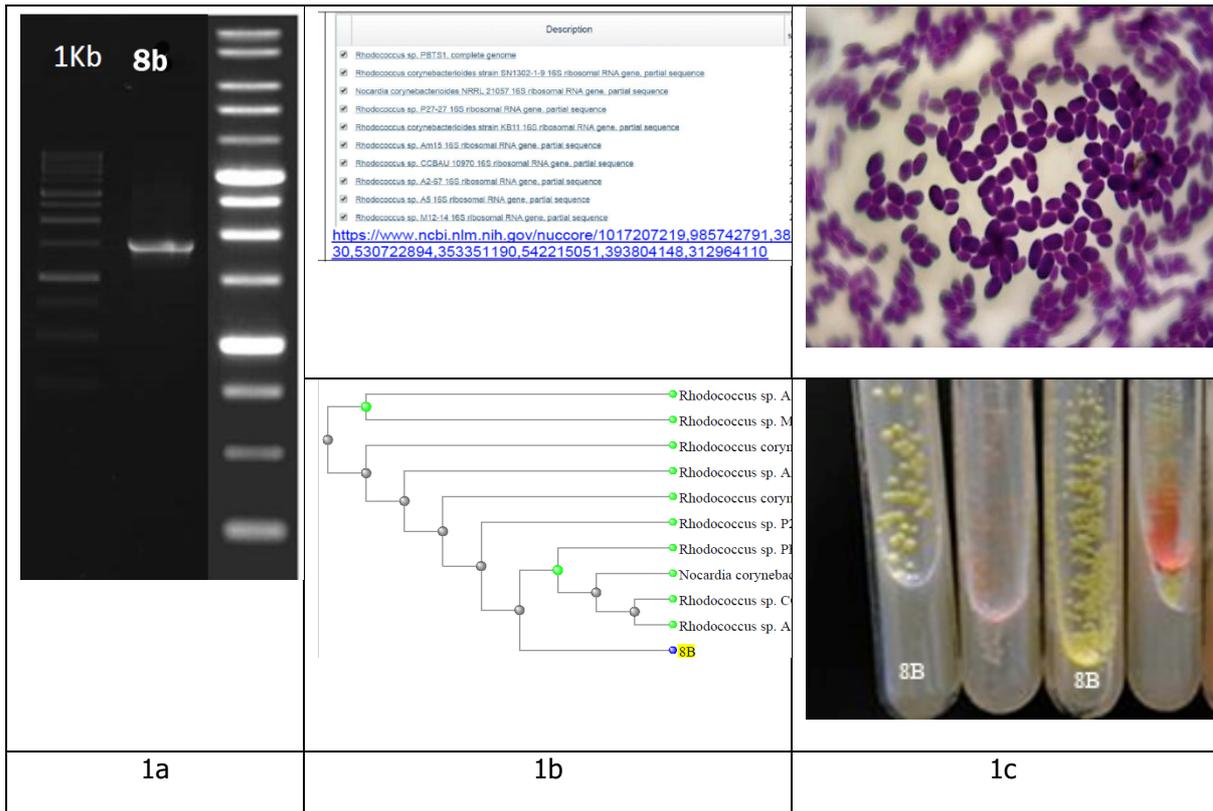
Sampel 8B digunakan perbandingan eluen (Metanol (Merck) : Aseton (Merck) : Hexane

(Merck), 1 : 1 : 1 v/v/v). Sampel ditotolkan pada plat KLT silika gel 60 ukuran 2 x10 cm yang sudah di plot dengan pensil (dan tangan tidak menyentuh permukaan plat yang mengandung silika gel). Sampel yang sudah ditotolkan dikering anginkan. Lalu, di masukkan ke dalam wadah pengembang (gelas chamber) yang berisi eluen dengan komposisi yang telah ditentukan. Dibiarkan noda mengembang sampai eluen berada pada batas yang sudah di garis dengan pensil. Kemudian diambil dan dikering anginkan dan di lihat spotnya dibawah sinar UV dan dihitung Rf-nya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

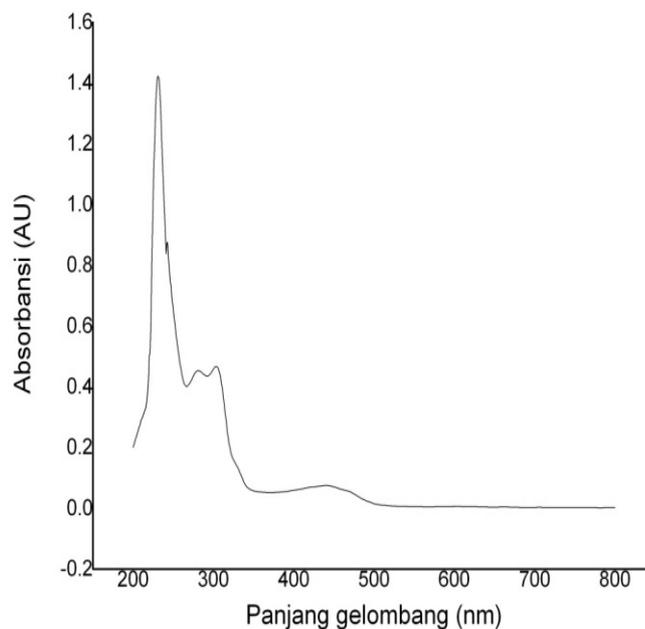
Karang melakukan hubungan simbiotik dengan berbagai bakteri, sehingga permukaan karang dikolonisasi oleh bakteri (DiSalvo, 1971). Dari jenis bakteri itu, ada bakteri yang dapat menghasilkan pigmen karotenoid (Johnson dan Schroeder, 1996). Manfaat pigmen dari bakteri adalah lebih aman digunakan untuk manusia dibandingkan pigmen buatan yang bisa mengandung bahan racun (Nelis dan Leenheer, 1991) Karang *Montipora* sp. juga bersimbiosis dengan bakteri berkarotenoid.

Berdasarkan hasil amplifikasi 16S rDNA menunjukkan bahwa isolat bakteri 8B menghasilkan pita basa 1400 bp sesuai dengan perbandingan menggunakan marker DNA. Hasil visualisasi DNA menggunakan elektroforesis disajikan pada Gambar 1a. Hasil analisis menggunakan BLAST menunjukkan bahwa isolat bakteri 8B memiliki kemiripan dengan spesies *Rhodococcus* sp. dengan homologi sekuen sebesar 99%. Analisis filogenetik menunjukkan bahwa *Rhodococcus* sp menggunakan *Bi-directional Sequencing* disajikan pada Gambar 1b dan hasil analisis menunjukkan bahwa isolat 8b memiliki hubungan kekerabatan dengan *Rhodococcus* sp.



Gambar 1. 1a) Visualisasi DNA menggunakan elektroforesis (kiri); 1b) Filogenetik *Rhodococcus* sp (sampel 8B) menggunakan *Bi-directional Sequencing* (kanan) 1c) gambar morfologi dan koloni (8b).

Hasil dari analisis pigmen dengan menggunakan spektrofotometer ditunjukkan pada Gambar 2 dengan panjang gelombang dari 200–800 nm, terlihat beberapa puncak gelombang.



Gambar 2. Pola spektra dari pigmen yang dihasilkan oleh bakteri *Rhodococcus* sp simbion *Motinpora* sp.

Dari hasil KLT Tabel 1, diperoleh 4 fraksi warna dan RF yang berbeda, yakni; kuning tua (0,41), kuning (0,54), merah muda (0,56), dan merah kecoklatan (0,60).

Tabel 1. Hasil KLT pigmen bakteri

Gambar	Warna	RF
	kuning tua	0,41
	kuning	0,54
	merah muda	0,56
	Merah	0,60
	kecoklatan	

*Mantipora* memiliki kandungan senyawa bioaktif *diacetylenic*. Senyawa *diacetylenic* terbukti memiliki sitotokisitas terhadap sejumlah sel tumor pada manusia (Speed dan Thamattoor, 2002). Ada kemungkinan, senyawa bioktif tersebut ikut dimiliki oleh salah satu simbiotiknya yakni *Rhodococcus*. Genus *Rhodococcus* terdiri dari *actinomyces* gram positif dengan koloni yang berpigmen merah atau merah muda (Hill *et al*, 1989). *Rhodococcus* sp yang ditemukan pada habitat laut, mayoritas adalah organisme halofilik, psikrotrofik, dan memiliki warna. Warna yang muncul dari genus *Rhodococcus* yang diisolasi dari lingkungan laut biasanya merah atau merah muda (Helmke dan Weyland, 1984). Osawa *et al* (2011) melaporkan, telah mengisolasi karotenoid (*OH-chlorobactene glucoside hexadecanoate*) dan karotenoid langka *OH-chlorobactene glucoside*, *OH--carotene glucoside* dan *OH-4-keto-carotene glucoside hexadecanoate* dari *Rhodococcus* sp.

Genus *Rhodococcus* adalah kelompok bakteri yang sangat beragam dan memiliki kemampuan untuk mereduksi sejumlah senyawa organik, termasuk beberapa senyawa yang paling sulit seperti *resalcital*. Beberapa strain milik genus *Rhodococcus*

telah diisolasi dari berbagai lingkungan yang terkontaminasi (Curragh, 1994; Haroune, 2004; Morii, 1998; Prince and Grossman, 2003), yang telah terbukti menjadi kandidat ideal untuk meningkatkan bioremediasi situs yang terkontaminasi dan berbagai biotransformasi, seperti modifikasi steroid, sintesis enantioselektif, dan produksi amida dari nitril (Kim dan Hyun, 2002). Sebagai contoh, *Rhodococcus* sp strain R04 diisolasi dari tanah yang terkontaminasi minyak di Cina utara mampu melakukan *biodegraining polychlorinated biphenyls* (PCBs) tidak hanya melalui ring *cleavage* tetapi juga melalui deklorinasi (Yang, 2007).

Genus *Rhodococcus* terdiri dari *actinomyces* gram positif dengan koloni yang berpigmen merah atau merah muda (Hill *et al*, 1989). Pada gambar (Gambar 1c), ditunjukkan warna koloni berwarna kuning. Warna kuning adalah pigmen yang dibentuk oleh bakteri tersebut dapat diindikasikan sebagai warna astaksantin, kantaksantin, dan Zeasantin (Amaya, 2005). Ketiga pigmen tersebut adalah turunan dari karotenoid.

Dengan ditemukannya *Rhodococcus* sp yang mampu memproduksi pigmen warna kuning dapat dijadikan sebagai sumber pigmen yang potensial. Penelitian selanjutnya diharapkan bisa mengetahui secara spesifik jenis pigmen dan besaran produktifitas dalam menghasilkan pigmen. Kedepannya *Rhodococcus* sp bisa dijadikan sebagai sumber agen hayati yang mampu memproduksi pigmen alami.

### **Pigmen *Rhodococcus* sp**

Puncak-puncak pola spektra (Gambar 2) pada beberapa panjang gelombang mengindikasikan adanya puncak serapan oleh pigmen-pigmen yang dihasilkan oleh *Rhodococcus* sp. Terlihat, ada 3 puncak pada panjang gelombang 200–300 nm yang merupakan rentangan cahaya UV-B.

Cahaya UV-B dapat merusak DNA dan protein jika terpapar terus-menerus. Beberapa mikroba seperti bakteri dan ragi memiliki karotenoid yang mampu menyerap UV-B (Hirabayashi *et al*, 2004; Kilian *et al*, 2007; Moline *et al*, 2009; Libkind *et al*,

2009) sebagai mekanisme perlindungan terhadap fotooksidasi dan stabilisasi membran sel pada suhu tinggi (Yamano *et al.*, 2002; Lutnaes *et al.*, 2004).

Chen *et al.* (2017) menemukan sekitar 14 senyawa karotenoid dan isoprenoid kuinon (*isoprenoid quinones*) yang diisolasi dari pigmen *Rhodococcus* sp. B7740, dengan puncak serapan antara 200 – 300 nm. (Ichiyama *et al.*, 1989) menemukan warna kuning oranye, merah muda salmon, dan merah tua dengan puncak serapan antara 400 – 500 nm.

Karotenoid yang diisolasi pada bakteri simbion karang pada penelitian ini, didominasi oleh pigmen warna kuning dengan serapan maksimum lebih rendah dari kebanyakan pigmen warna kuning cahaya tampak. Pigmen kuning cahaya tampak dengan panjang gelombang sekitar 400 – 500 nm tidak banyak terisolasi untuk dapat dideteksi oleh spektrofotometer. Amaya (2001) mengatakan, serapan maksimal pada panjang gelombang 400 – 500 nm dengan pelarut aseton akan menyerap beberapa spektrum warna/pigmen. Pada panjang gelombang 448 nm ( *$\alpha$ -carotenoid*), panjang gelombang 480 (*astaxanthin*), dan panjang gelombang 452 nm ( *$\beta$ -carotenoid* dan *zeaxanthin*).

Dari hasil analisis menggunakan KLT seperti ditunjukkan pada Tabel 1, menunjukkan ada empat fraksi warna yang terpisah. Empat fraksi warna tersebut terpisah berdasarkan berat molekulnya masing-masing dan sifat kelarutannya. Warna kuning tua, kuning muda, merah muda, dan merah kecoklatan adalah indikasi warna dari karotenoid.

### **Pemanfaatan Pigmen Alami**

Karotenoid tidak semata-mata bertanggung jawab atas pembentukan warna merah, merah muda, dan kuning tetapi ada manfaat lain. Di dalam dunia medis dan industri farmasi, dan industri pangan, karotenoid berfungsi sebagai; sumber vitamin A, anti kanker, sumber antioksidan, dan pewarna alami untuk makanan dan minuman.

Di dalam industri makanan dan minuman pemanfaatan pewarna sebagai BTP (bahan tambahan pangan) dapat digunakan untuk memberi nilai tambah pada produk. Penambahan BTP yang tidak baik dan benar akan memberikan potensi gangguan kesehatan. Dari permasalahan inilah yang memunculkan gagasan pemanfaatan pewarna alami sebagai BTP yang jauh lebih aman. Karotenoid dari bakteri (biopigmen) yang bersimbiosis dengan terumbu karang bisa menjadi alternatif sebagai BTP yang aman.

Kelebihan pemanfaatan pigmen alami dari bakteri adalah tidak diperlukannya lahan yang luas dan waktu yang lama saat memanen pigmen, jika dibandingkan dengan pigmen dari hewan atau tumbuhan. Dalam waktu singkat dapat dihasilkan pigmen dari bakteri yang ditumbuh kembangkan dalam bioreaktor. Untuk kedepannya, pigmen dari bakteri bisa menjadi penyuplai pigmen alami untuk pemenuhan kebutuhan pigmen dalam berbagai bidang industri. Dengan terpenuhinya kebutuhan pigmen alami maka akan menekan penggunaan pigmen sintetik, sehingga permasalahan berkaitan dengan efek samping pigmen sintetik bisa ditekan.

### **KESIMPULAN**

Bakteri simbion yang diisolasi dari *Motipora* sp adalah *Rhodococcus* yang menghasilkan pigmen warna kuning (karotenoid) Tiga puncak pd pnjng gel 200-300nm adalah rentangan cahaya uv-B dan dengan KLT terdpt 4 fraksi warna yakni; kuning tua, kuning muda, merah muda, dan merah kecoklatan. Pigmen tersebut dapat berpotensi digunakan sbg pewarna alami pangan.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Kami mengucapkan terimakasih pada lab CARC (Carotenoid and Antioxidant Research Center) UKSW yang telah menyediakan peralatan dan bahan-bahan kimia untuk penelitian dan analisis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amaya, D.B.R. 2005. A Guide To Carotenoid Analysis in Food. ILSI Press. Washington.
- Arini, D.I.D. 2013. Potensi Terumbu Karang Indonesia "Tantangan dan Upaya Konservasinya" *The Challenge and Conservation Efforts of Indonesian Coral Reefs*. INFO BPK Manado Vol.3 No.2.
- Chen, Y., Xie, B., Yang, J., Chen, J., Sun, Z.. 2017. Identification of microbial carotenoids and isoprenoid quinones from *Rhodococcus* sp. B7740 and its stability in the presence of iron in model gastric conditions. Food Chemistry doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.067>
- Curragh, H. 1994. Haloalkane degradation and assimilation by *Rhodococcus rhodochrous* NCIMB 13064. Microbiology 140:1433–1442
- DiSalvo, L.H. 1971. Regenerative function and microbial ecology of coral reefs: labeled bacteria in a coral reef microcosm. J Exp Mar Biol Ecol 7:123–136.
- Fardiaz, S. 1989. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan. IPB. Bogor.
- Geneaid. 2017. Instruction Manual Presto™ Mini RNA Bacteria Kit. Geneaid Biotech Ltd. <https://www.geneaid.com/sites/default/files/RBB21.pdf>
- Haroune, N. 2004. Metabolism of 2-mercaptobenzothiazole by *Rhodococcus rhodochrous*. Appl. Environ. Microbiol. 70:6315–6319
- Helmke, R., Weyland, H. 1984. *Rhodococcus marinonascens* sp. Nov., an Actinomycete from the Sea. International Journal of Systematic Bacteriology. 34(2):127-128.
- Hill, R., Hart S., Illing, N., Kirby, R., Wood, D.R. 1989. Cloning and Expression of *Rhodococcus* Genes Encoding Pigment Production in *Escherichia coli*. Journal of General Microbiology 13: 1507-1513.
- Hirabayashi, H., Ishii, T., Takaichi, S., Inoue, K., Uehara, K. 2004. The role of carotenoids in the photoadaptation of the brown-colored sulfur bacterium *Chlorobium phaeobacteroides*. Photochem Photobiol 79:280–285.  
<http://www.mdpi.com/20726643/6/2/546/html> (diakses 30 September 2019)
- Ichiyama, S., Shimakata, K., S., Tsukamura, M., 1989. Carotenoid pigments of genus *Rhodococcus*. Microbial Immunol 33:503-508.
- Johnson, E.A. and Schroeder, W.A. 1996. Microbial carotenoids. Advances in biochemical engineering/biotechnology 53:119–178.
- Kilian O., Steunou A.S., Fazeli F., Bailey S., Bhaya D., Grossman, A.R. 2007. Responses of a thermophilic *Synechococcus* isolate from the microbial mat of Octopus Spring to light. Appl Environ Microbiol 73:4268–4278
- Kim, B. Y., and H. H. Hyun. 2002. Production of acrylamide using immobilized cells of *Rhodococcus rhodochrous* M33. Biotechnol. Bioproc. Eng. 7:194–200
- Libkind, D., Moline, M., Sampaio, J.P., van Broock, M. 2009. Yeasts from high-altitude lakes: influence of UV radiation. FEMS Microbiol Ecol 69:353–362.
- Lutnaes, B.F., Strand, A., Petursdottir, S.K., Liaaen-Jensen, S. 2004. Carotenoids of thermophilic bacteria – *Rhodothermus marinus* from submarine Icelandic hot springs. Biochem Syst Ecol 32:455–468
- Moline, M., Libkind, D., Dieguez Mdel C., van Broock, M. 2009. Photoprotective role of carotenoids in yeasts: Response to UV-B of pigmented and naturally-occurring albino strains. J Photochem Photobiol B 95:156–161.
- Morij, S. 1998. 3-Ketosteroid-delta1-dehydrogenase of *Rhodococcus rhodochrous*: sequencing of the genomic DNA and hyperexpression, purification, and characterization of the recombinant enzyme. J. Biochem. 124: 1026–1032.
- Nelis, H.J., de Leenheer, A.P. 1991. Microbial sources of carotenoid pigments used in

- foods and feeds. *Journal of Applied Bacteriology* 70:181–191.
- Osawa, A., Kasahara, S., Mastuoka, S., Gassel, S., Sandmann, G., Shindo, K. 2011. Isolation of a Novel Carotenoid, OH-chlorobactene Glucoside Hexadecanoate, and Related Rare Carotenoids from *Rhodococcus* sp. CIP and Their Antioxidative Activities. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75 (11), 2142–2147.
- Prince, R. C., and M. J. Grossman. 2003. Substrate preferences in biodesulfurization of diesel range fuels by *Rhodococcus* sp. strain ECRD-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:5833–5838.
- Puspita, D., Tjahyono, Y.D., Samalukang, Y., Toy, B.A.I., Totoda, N.W. 2018. PRODUKSI ANTOSIANIN DARI DAUN MIANA (*Plectranthus scutellarioides*) SEBAGAI PEWARNA ALAMI. *Pro Food (Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan)*. 4(1):298-303.
- Radjasa, O.K., S.I.O. Salasia, A. Sabdono, J. Weise, J.F. Imhoff, C. Lammler, and M.J. Risk. 2007. Antibacterial activity of marine bacterium *Pseudomonas* sp associated with soft coral *Sinularia polydactyla* and against *Streptococcus equi* Subsp. *zoepidemicus*. *Int. J. of pharmacology*, 3(2):170-174
- Speed T.J, Thamattoor D.M. 2002. Synthesis of montiporynes A and B. *Tetrahedron Letters* 43. 367–369.2002
- Winarno F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wusqy, N.K. Limantara L, Karwur F.K. 2014. Exploration, Isolation and Quantification of  $\beta$ -carotene from Bacterial Symbion of *Acropora* sp. *Microbiology Indonesia*. Vol.8, No.2, June 2014 (58-64)
- Yang, X. Q., . 2007. Characterization and functional analysis of a new gene cluster involved in biphenyl/PCB degradation in *Rhodococcus* sp. strain R04. *J. Appl. Microbiol.* 103:2214–2224.
- Yamano, Y., Sakai, Y., Hara, M., Ito, M. 2002. Carotenoids and related polyenes. Part 9. Total synthesis of thermozeaxanthin and thermoerythroxanthin and the stabilizing effect of thermozeaxanthin on liposomes. *J Chem Soc Perk T* 1:2006–2013.