



PRODUKSI KAROTENOID OLEH *Rhodosporidium paludigenum* DALAM MEDIA YEAST PEPTONE DEXTROSE DENGAN SUPLEMENTASI MOLASE

Renna Eliana Warjoto^{1*}, Theresia Andriana², dan Bibiana Widiati Lay³

^{1&3}Program Studi Sarjana Bioteknologi, Fakultas Teknobiologi,
Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Indonesia

²Program Studi Sarjana Teknologi Pangan, Fakultas Teknobiologi,
Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Indonesia

*E-Mail : renna.eliana@atmajaya.ac.id

DOI : <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v9i2.4338>

Submit: 28-10-2021; Revised: 08-12-2021; Accepted: 12-12-2021; Published: 30-12-2021

ABSTRAK: Pigmen karotenoid umumnya ditemukan dalam buah dan sayuran, namun karotenoid juga dapat diproduksi oleh mikroorganisme seperti khamir. Karotenoid mempunyai sejumlah manfaat, di antaranya sebagai senyawa antioksidan dan prekursor vitamin A. Produksi karotenoid dengan mikroorganisme bergantung pada berbagai faktor, seperti pH, suhu, dan kandungan nutrisi dalam media. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi suplementasi molase dan pH kultivasi yang optimum untuk produksi karotenoid oleh khamir merah *Rhodosporidium paludigenum*. Pada penelitian ini, *Rhodosporidium paludigenum* dikultivasi dalam media *Yeast Peptone Dextrose* (YPD) yang disuplementasi molase dengan konsentrasi total gula dalam media sebesar 2%. Penelitian ini adalah penelitian faktorial dengan 8 kelompok perlakuan, yakni: suplementasi molase 0%, 25%, 50%, dan 75% dalam media dengan pH awal masing-masing 5 dan 6. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, khamir dalam media yang disuplementasi molase 25% dengan pH 5 menghasilkan kadar karotenoid paling tinggi, jika dibandingkan dengan khamir yang dikultivasi dalam suplementasi molase 50% dan 75%. Media dengan suplementasi molase 25% pada pH 5 menghasilkan rendemen β -karoten dan xantofil terhadap berat kering biomassa masing-masing sebesar 26,67 $\mu\text{g/g}$ dan 31,15 $\mu\text{g/g}$. Meskipun demikian, khamir dalam media tanpa suplementasi (0%) tetap menghasilkan karotenoid tertinggi di antara semua perlakuan.

Kata Kunci: β -Karoten, Karotenoid, Molase, *Rhodosporidium paludigenum*, Xantofil.

ABSTRACT: Carotenoid pigments are commonly found in fruits and vegetables, but carotenoids can also be produced by microorganisms such as yeasts. Carotenoids have several benefits, including antioxidant compounds and vitamin A precursors. Production of carotenoids by microorganisms depends on various factors, such as pH, temperature, and nutrient content in the media. This study aimed to determine the optimum concentration of molasses supplementation and the initial pH of the media for carotenoid production by the red yeast *Rhodosporidium paludigenum*. In this study, the red yeast was cultivated in *Yeast Peptone Dextrose* (YPD) media supplemented with molasses, with a total sugar concentration of 2% in the media. This study had a factorial design with eight treatment groups, i.e., molasses supplementation of 0%, 25%, 50%, and 75% in the media with initial pH of 5 and 6 for each molasses supplementation. The results showed that the culture in the media with supplementation of 25% molasses and pH 5 produced the highest levels of carotenoids when compared to those with 50% and 75% molasses supplementation concentrations. The yields of β -carotene and xanthophyll over biomass dry-weight in the media with 25% molasses supplementation at pH 5 were 26.67 $\mu\text{g/g}$ and 31.15 $\mu\text{g/g}$, respectively. Nevertheless, the red yeast in the media without supplementation (0%) produced the highest carotenoid concentration among all treatments.

Keywords: β -Carotene, Carotenoids, Molasses, *Rhodosporidium paludigenum*, Xanthophyll.





PENDAHULUAN

Karotenoid adalah pigmen larut lemak yang tersusun dari rantai C40 terpenoid dengan rentang warna kuning hingga merah. Secara umum, karotenoid terbagi menjadi kelompok karoten dan xantofil. Pigmen ini umum ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, bunga, dan mikroorganisme. Karotenoid dapat berperan sebagai antioksidan dan prekursor vitamin A. Oleh karena itu, karotenoid dapat diaplikasikan sebagai senyawa aditif di industri farmasi, makanan, dan pakan (Mannazzu *et al.*, 2015). Produksi karotenoid dapat dilakukan secara kimiawi, namun saat ini ketertarikan masyarakat pada bahan alami semakin tinggi. Produksi karotenoid secara alami menggunakan tanaman memiliki beberapa kendala, seperti keterbatasan lahan dan pergantian musim. Salah satu alternatif produksi karotenoid secara alami adalah dengan menggunakan mikroorganisme seperti khamir, sehingga proses produksi dapat berlangsung lebih cepat dan mudah dikontrol (Machado & Burkert, 2015).

Khamir yang biasa digunakan untuk produksi karotenoid antara lain berasal dari genus *Rhodotorula* (Tarangini & Mishra, 2014; Zhang *et al.*, 2014), *Xanthophyllomyces* (Castelblanco-Matiz *et al.*, 2015), dan *Rhodospiridium* (Liu & Zhu, 2017; Yimyoo *et al.*, 2011). Khamir merah berpotensi digunakan sebagai penghasil karotenoid, namun yang masih jarang diteliti adalah *Rhodospiridium paludigenum*. Khamir ini umumnya berbentuk bulat elips, berwarna salmon jingga, dengan koloni *shiny* (Nutaratat *et al.*, 2016). Produksi karotenoid oleh mikroorganisme dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH dan kandungan nutrisi dalam media (Behera & Varma, 2017).

Limbah agroindustri yang relatif murah dapat dimanfaatkan kembali sebagai substrat untuk produksi karotenoid oleh mikroorganisme seperti *Rhodospiridium paludigenum* (Mata-Gómez *et al.*, 2014). Produksi karotenoid oleh khamir *Rhodospiridium paludigenum* menggunakan media hidrolisat pati singkong menghasilkan rendemen sebesar $69,68 \pm 0,08 \mu\text{g/g}$ biomassa kering (Warjoto *et al.*, 2020a). Khamir ini juga dapat menghasilkan total karotenoid sebesar $107,63 \mu\text{g/g}$ biomassa kering menggunakan ekstrak kulit jeruk sebagai substrat pada pH 6 tanpa penambahan sumber nitrogen (Warjoto *et al.*, 2020b). Selain itu, limbah agroindustri lain seperti sisa pengolahan sari tebu (Bonadio *et al.*, 2018), air dadih (*whey*), limbah pengolahan jagung, dan molase (Galal & Ahmed, 2020) juga berpotensi digunakan untuk produksi karotenoid oleh mikroorganisme.

Limbah molase adalah hasil sampingan dari produk olahan gula. Komponen yang paling banyak terkandung dalam limbah molase, antara lain: sukrosa, fruktosa, glukosa, air, protein, lemak, dan zat anorganik. Pada beberapa penelitian, limbah molase dapat digunakan sebagai sumber karbon. Namun, konsentrasi molase yang tinggi juga diketahui mampu menghambat proses fermentasi (Liu & Zhu, 2017). Oleh sebab itu, dalam penelitian ini molase





digunakan untuk suplementasi medium fermentasi khamir merah *Rhodospiridium paludigenum*. Penelitian bertujuan untuk menentukan konsentrasi suplementasi molase dan pH kultivasi yang optimum untuk produksi karotenoid menggunakan *Rhodospiridium paludigenum*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan faktorial. Terdapat 8 variasi perlakuan dalam penelitian ini, yakni media fermentasi *Rhodospiridium paludigenum* yang disuplementasi molase 0%, 25%, 50%, dan 75% dengan pH awal masing-masing 5 dan 6 (Tabel 1).

Tabel 1. Rancangan Penelitian.

Perlakuan	pH Awal	Suplementasi Molase (%)	Komposisi (Kadar Gula) (%)		
			Molase	Glukosa	Total
1	5	0	0	2	2
2		25	0.5	1.5	2
3		50	1	1	2
4		75	1.5	0.5	2
5	6	0	0	2	2
6		25	0.5	1.5	2
7		50	1	1	2
8		75	1.5	0.5	2

Preparasi Substrat

Larutan stok molase dibuat dengan mengencerkan molase menggunakan akuades hingga mencapai pengenceran 10 kali. Selanjutnya, total gula pereduksi ditentukan dengan metode *Dinitro Salicylic Acid* (DNS) dan spektrofotometer (*Model Genesys 20, Thermo Scientific*) pada panjang gelombang 540 nm, kemudian absorbansi yang diperoleh dikonversi ke dalam kurva standar glukosa.

Preparasi Inokulum

Khamir *Rhodospiridium paludigenum* (InaCC Y236) ditumbuhkan pada media steril *Potato Dextrose Agar* (PDA), kemudian diinkubasi selama 48 jam pada 28°C. *Rhodospiridium paludigenum* kemudian diinokulasikan ke dalam 50 mL media *Yeast Peptone Dextrose* (YPD) dalam labu Erlenmeyer 250 mL. Kultur dalam media YPD diinkubasi dalam *Water Bath Shaker* (*Model GFL 1086, Thermolab*) pada 28°C, 120 rpm, selama 24 jam. Media YPD tersusun dari 20 g/L glukosa, 10 g/L *yeast extract*, dan 10 g/L pepton dengan pH 6 (Liu & Zhu, 2017).

Produksi Karotenoid

Fermentasi kultur terendam dilakukan dalam media YPD dengan konsentrasi penambahan molase yang berbeda (Tabel 1). Volume total labu Erlenmeyer yang digunakan sebesar 250 mL, sedangkan volume kultur (*working volume*) sebesar 50 mL, yang terdiri dari 2,5 mL inokulum *Rhodospiridium paludigenum* (setara dengan $1,85 \times 10^8$ sel/mL), dan suplementasi molase dengan total akhir kadar gula sebesar 2% (Liu & Zhu, 2017). Percobaan dilakukan secara faktorial, yakni dengan variasi pH 5 dan 6, serta suplementasi molase 0%, 25%, 50%, dan 75%. pH awal kultur disesuaikan dengan penambahan NaOH 1M atau HCl 1M. Kultur diinkubasi dalam *Water Bath Shaker* pada suhu 28°C dan





kecepatan agitasi 120 rpm, dengan tiga kali pengulangan. Pengambilan sampel dilakukan setiap interval 24 jam selama 6 hari.

Penentuan Kadar Gula Pereduksi

Sebanyak 1,5 mL sampel diambil dari kultur fermentasi. Sampel kemudian disentrifugasi pada kecepatan 2400 xg selama 10 menit (Model Microcentrifuge, Sorvall Pico). Supernatan yang diperoleh kemudian dipindahkan ke dalam tabung vial baru untuk penentuan kadar gula pereduksi. Supernatan diencerkan dengan menambahkan aquades. Pengenceran dilakukan sebanyak 5, 10, 50, dan 100 kali, disesuaikan dengan nilai absorbansi yang diperoleh. Ke dalam 0,5 mL supernatan yang telah diencerkan, ditambahkan 0,5 mL aquades dan 1,5 mL pereaksi DNS, kemudian campuran dihomogenisasi dengan vorteks. Blanko dibuat dari 1 mL aquades dan 1,5 mL pereaksi DNS yang dihomogenisasi menggunakan vorteks. Tabung reaksi kemudian dipanaskan selama 10 menit. Setelah didinginkan pada suhu ruang, sampel kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer (Model Genesys 20, Thermo Scientific) pada panjang gelombang 540 nm. Absorbansi kemudian dikonversi menjadi konsentrasi menggunakan kurva standar.

Penentuan Bobot Kering Biomassa

Pelet hasil sentrifugasi sampel yang berisi sel khamir, diresuspensi dalam 1 mL aquades menggunakan vorteks. Suspensi sel kemudian dituang ke dalam wadah *aluminium foil* yang sebelumnya sudah ditimbang beratnya. Suspensi sel dalam *aluminium foil* disimpan dalam oven pada suhu 80°C, dan ditimbang setiap satu jam hingga diperoleh berat kering (*dry weight*) konstan (Tarangini & Mishra, 2014).

Ekstraksi dan Penentuan Kadar Karotenoid

Kultur dipanen pada hari ke-6 proses fermentasi, yakni dengan sentrifugasi (Heraeus Megafuge 16R Centrifuge) pada kecepatan 8570 xg selama 10 menit. Pelet diletakkan dalam *aluminium foil*, kemudian dikeringkan menggunakan *freeze dryer* selama 5 hari (Model FD-551, Eyela, Japan). Analisis karotenoid diawali dengan menghaluskan pelet sampel yang telah kering menggunakan mortar dan alu sampai terbentuk bubuk kasar. Ke dalam setiap 0,2 g sampel, ditambahkan 3 ml pelarut aseton, kemudian homogenisasi dilakukan dengan vorteks selama 1 menit. Sel kemudian dipecah menggunakan ultrasonifikasi (Model 150 VT, Ultrasonic Homogenizer, BioLogics) dengan frekuensi 40 kHz selama 10 menit. Sampel selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 16200 xg selama 2 menit (Model Microcentrifuge, Sorvall Pico), lalu supernatan yang diperoleh digunakan untuk penentuan konsentrasi karotenoid. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 455 nm untuk β -karoten, dan 480 nm untuk xantofil. Absorbansi yang diperoleh kemudian dikonversikan menjadi kadar karotenoid menggunakan kurva standar.

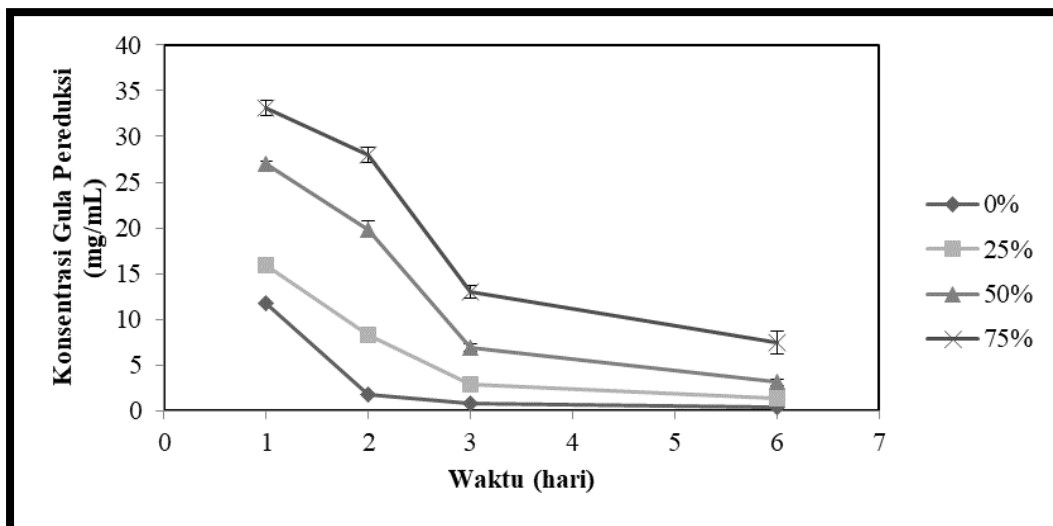
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Gula Pereduksi dan Bobot Kering Biomassa

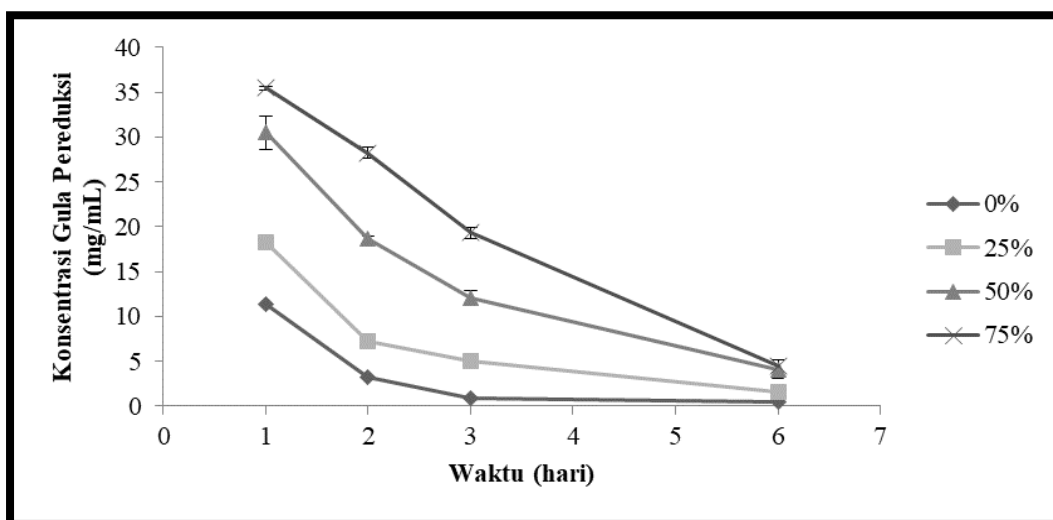
Penentuan kadar gula pereduksi bertujuan untuk mengetahui berapa banyak gula yang digunakan oleh sel di dalam media selama proses fermentasi



berlangsung. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, konsumsi gula dengan suplementasi molase 75% lebih rendah dibandingkan dengan konsumsi gula tanpa suplementasi molase (0%) (Gambar 1 dan 2).

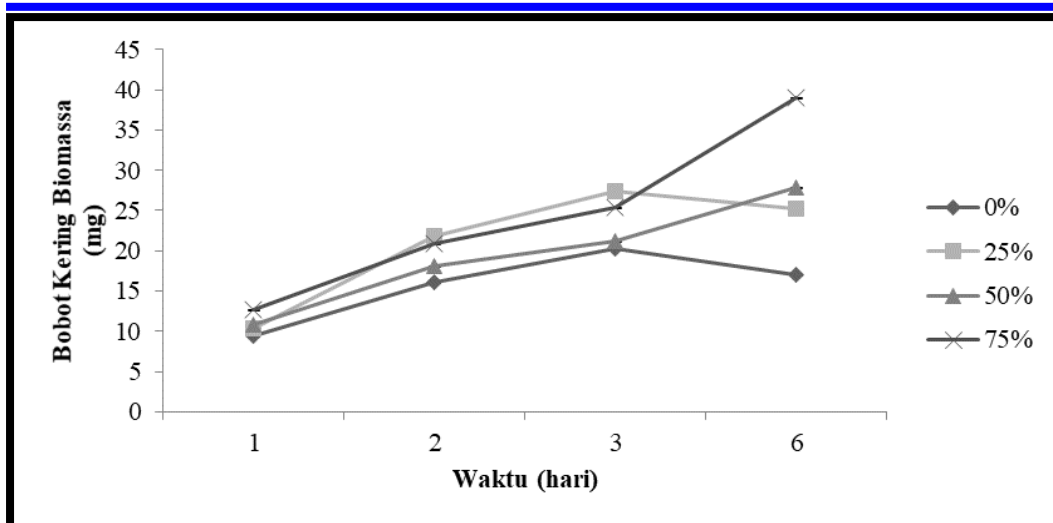


Gambar 1. Konsentrasi Gula Pereduksi pada pH 5 dan Suplementasi Molase 0%, 25%, 50%, dan 75%.

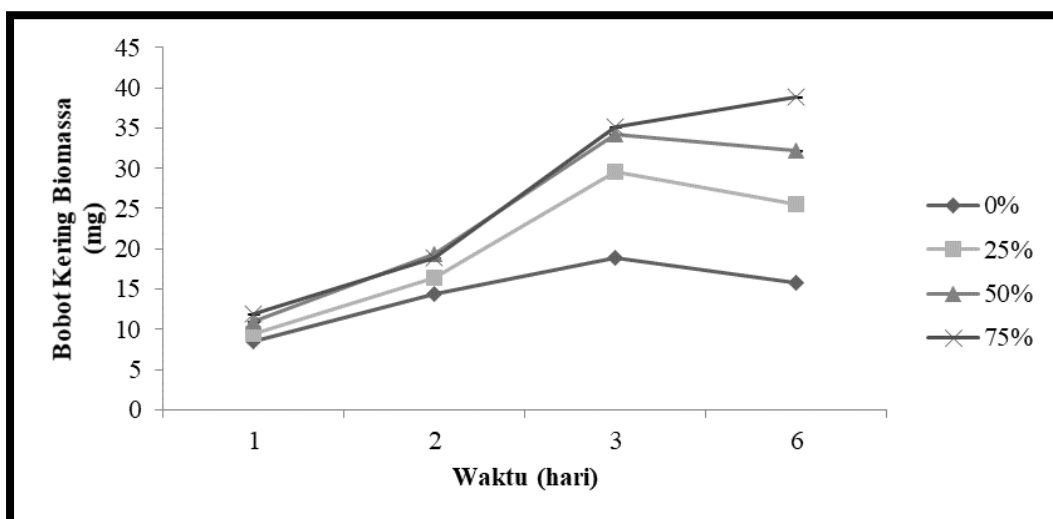


Gambar 2. Konsentrasi Gula Pereduksi pada pH 6 dan Suplementasi Molase 0%, 25%, 50%, dan 75%.

Bobot kering biomassa kultur mengalami peningkatan dari hari pertama hingga hari keenam. Pada hari keenam, bobot kering biomassa mengalami penurunan dalam media ber pH 5 dengan suplementasi molase 0% dan 25%. Namun, bobot kering biomassa dalam media ber pH 5 dengan suplementasi molase 50% dan 75% terus meningkat hingga hari keenam (Gambar 3). Hal yang sama diperoleh pada media ber pH 6, kecuali pada suplementasi molase 50%, di mana bobot kering biomassa mengalami penurunan pada hari keenam (Gambar 4).



Gambar 3. Bobot Kering Biomassa pada pH 5 dan Supplementasi Molase 0%, 25%, 50%, dan 75%.



Gambar 4. Bobot Kering Biomassa pada pH 6 dan Supplementasi Molase 0%, 25%, 50%, dan 75%.

Dalam penelitian ini, sejak hari pertama proses fermentasi, laju konsumsi kultur *Rhodospiridium paludigenum* dalam media tanpa suplementasi molase lebih tinggi daripada kultur yang difermentasi dalam media yang disuplementasi molase (Gambar 1 dan 2). Laju konsumsi yang tinggi, menyebabkan gula yang tersisa dalam media tanpa suplementasi molase pada hari keenam menjadi sangat rendah. Oleh karena itu, bobot kering biomassa pada hari keenam dalam kultur yang tanpa suplementasi molase mulai menurun, karena konsentrasi gula yang tersisa dalam medium telah mendekati nol.

Kultur yang difermentasi dalam media dengan suplementasi molase 25% memiliki laju konsumsi gula yang cukup tinggi, jika dibandingkan dengan kultur yang disuplementasi molase 50% dan 75%, namun tidak setinggi kultur dalam



media tanpa suplementasi molase. Tingginya laju konsumsi gula dalam media dengan suplementasi molase 25%, menyebabkan gula yang tersisa dalam media pada hari keenam cukup rendah. Rendahnya gula yang tersisa dalam medium dengan suplementasi molase 25%, menyebabkan bobot kering biomassa mengalami penurunan pada hari keenam.

Laju konsumsi gula yang rendah pada kultur dengan suplementasi molase 75%, menyebabkan gula yang tersisa di dalam media pada hari keenam masih cukup tinggi, jika dibandingkan dengan media suplementasi molase 25%. Oleh karena itu, bobot kering biomassa dalam media dengan suplementasi molase 75% masih meningkat pada hari keenam (Gambar 3 dan 4).

Pertumbuhan sel terbagi ke dalam empat fase, yaitu: fase lag, fase log, fase stasioner, dan fase kematian. Pada fase lag, sel masih beradaptasi dengan kondisi lingkungan, biasanya terjadi saat sel baru diinokulasikan ke dalam media. Pada fase log, pertumbuhan sel akan mengalami peningkatan pesat jika dibandingkan dengan fase lag, sehingga bobot kering biomassa juga mengalami kenaikan secara eksponensial. Pada fase stasioner, laju pertumbuhan sel akan sama dengan laju kematian sel. Pada fase kematian, pertumbuhan sel mulai mengalami penurunan, sehingga bobot kering biomassa juga mengalami penurunan (Lee *et al.*, 2014). Menurut Lee *et al.* (2014), *Rhodospiridium paludigenum* akan memproduksi karotenoid pada akhir fase log sampai awal fase stasioner. Hal tersebut sejalan dengan penelitian ini, sebab karotenoid yang terdapat di dalam *Rhodospiridium paludigenum* merupakan senyawa metabolit sekunder yang tidak berperan dalam metabolisme primer sel khamir pada fase log. Pigmen karotenoid biasanya berperan untuk melindungi sel terhadap kelebihan cahaya dan paparan oksigen dari lingkungan, sehingga mencegah inhibisi dan stres oksidatif (Mata-Gómez *et al.*, 2011).

Kadar Karotenoid

Hasil ekstraksi karotenoid menunjukkan bahwa, khamir yang dikultivasi dalam media dengan suplementasi molase 25% dan pH 5 menghasilkan konsentrasi β -karoten (26,67 $\mu\text{g/g}$) dan xantofil (31,15 $\mu\text{g/g}$), tertinggi jika dibandingkan dengan kultur dalam media dengan suplementasi molase 50% dan 75%. Namun, konsentrasi β -karoten dan xantofil yang dihasilkan tidak setinggi kultur dalam media tanpa suplementasi molase (0%) (Tabel 2). Meskipun pada hari keenam, bobot kering biomassa yang diperoleh dari media dengan suplementasi molase 75% paling tinggi, namun kadar karotenoidnya cukup rendah (Tabel 2). Hal ini diduga terjadi akibat pengaruh mineral yang terdapat dalam molase.

Menurut Gharibzahedi *et al.* (2013), molase yang digunakan dalam fermentasi akan meningkatkan biomassa yang terbentuk. Akan tetapi, molase yang tinggi dapat menghambat proses fermentasi, karena adanya komponen pengotor dalam molase. Pengotor yang terdapat di dalam molase mampu mempengaruhi produksi karotenoid, sehingga diperlukan tahapan *pre treatment* untuk purifikasi. Selain itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui komposisi molase yang digunakan dalam penelitian ini (Gharibzahedi *et al.*, 2013; Wardani & Pertiwi, 2013).





Tabel 2. Kadar Karotenoid.

pH Awal	Suplementasi Molase (%)	Konsentrasi β -Karoten		Konsentrasi Xantofil	
		[$\mu\text{g/mL}$] [*]	[$\mu\text{g/g}$] ^{**}	[$\mu\text{g/mL}$] [*]	[$\mu\text{g/g}$] ^{**}
5	0	5.61	89.93	6.12	96.00
	25	1.67	26.67	1.95	31.15
	50	1.22	19.59	1.18	18.84
	75	1.30	20.87	1.32	21.14
6	0	5.47	87.56	6.00	96.01
	25	1.54	24.67	1.53	24.48
	50	1.28	20.51	1.14	18.31
	75	1.44	23.10	1.28	20.54

Data ditampilkan dalam rata-rata dua kali pengulangan.

^{*}) Konsentrasi terhadap volume ekstrak;

^{**}) Konsentrasi terhadap biomassa.

Salah satu faktor penghambat proses fermentasi di dalam molase adalah kandungan mineral dalam molase. Mineral dalam molase (Cu, Mg, dan Fe), diduga dapat mempengaruhi produksi karotenoid oleh *Rhodospiridium paludigenum*. β -karoten merupakan senyawa yang sensitif terhadap komponen logam, karena ion logam dapat memicu oksidasi karotenoid (Fajar *et al.*, 2014). Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk *pre treatment* molase, yaitu dengan menggunakan H_2SO_4 pekat. Ion SO_4^{2-} akan mengikat dan mengendapkan logam yang terkandung di dalam molase, kemudian molase dapat dipisahkan dari kandungan logamnya (Fajar *et al.*, 2014; Wardani & Pertiwi, 2013).

Produksi karotenoid oleh *Rhodospiridium paludigenum* diketahui mencapai kondisi optimum pada hari kelima atau keenam fermentasi, yakni pada akhir fase log, dengan substrat gliserol (Yimyoo *et al.*, 2011). Dalam penelitian ini, karotenoid dihasilkan pada hari keenam oleh *Rhodospiridium paludigenum* pada media yang difortifikasi molase. Liu & Zhu (2017) menyatakan bahwa, molase merupakan salah satu sumber karbon yang cocok digunakan untuk pembentukan karoten pada khamir *Phaffia rhodozyma*. Beberapa faktor yang mendukung pertumbuhan sel serta produksi karotenoid antara lain kondisi media pertumbuhan, seperti pH dan komponen media. Nilai pH optimum untuk pertumbuhan *Rhodospiridium paludigenum* berada pada kisaran 5. Kondisi pH berpengaruh terhadap produksi karotenoid, terutama pada fase stasioner (Nasirian *et al.*, 2018). Nilai pH media yang terlalu rendah dapat mempengaruhi fase lag, semakin lama durasi fase lag maka pertumbuhan khamir akan semakin lama, sehingga laju fermentasi mengalami penurunan (Liu *et al.*, 2015). Nilai pH yang ekstrim akan mempengaruhi pembentukan produk dan pertumbuhan sel, karena dapat mengganggu proses transportasi nutrisi melalui membran plasma. Dalam penelitian ini, pH 5 merupakan kondisi optimum yang mampu meningkatkan aktivitas pertumbuhan sel *Rhodospiridium paludigenum* dan produksi karotenoid (Yimyoo *et al.*, 2011; Maier & Pepper, 2015; Liu & Zhu, 2017).

SIMPULAN

Simpulan dalam penelitian ini, rendemen β -karoten (26,67 $\mu\text{g/g}$) dan xantofil (31,15 $\mu\text{g/g}$) terhadap berat kering biomassa khamir *Rhodospiridium*





paludigenum dengan suplementasi molase 25% pada pH 5, ditemukan paling tinggi di antara semua kultur yang disuplementasi molase pada pH 5 maupun 6. Namun, rendemen β -karoten ($89,93 \mu\text{g/g}$) dan xantofil ($96,00 \mu\text{g/g}$) terhadap berat kering biomassa dari kultur tanpa suplementasi molase (0%), tetap lebih tinggi daripada kultur yang difermentasi dalam media dengan suplementasi molase 25%.

SARAN

Meskipun kultur yang disuplementasi molase dalam penelitian ini dapat menghasilkan karotenoid, namun hasil yang diperoleh masih lebih rendah daripada kultur yang tumbuh dalam media tanpa suplementasi molase. Dengan demikian, dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai produksi karotenoid oleh khamir *Rhodospiridium paludigenum* dalam media yang mengandung molase. Penentuan kandungan molase dan *pre treatment* atau purifikasi molase, dapat dilakukan terlebih dahulu sebelum molase digunakan dalam media fermentasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya yang telah menyediakan dana penelitian, Dr. Tresnawati Purwadaria yang telah memberikan saran selama penelitian berlangsung, semua staf laboran Fakultas Teknobiologi yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian di laboratorium, serta para mahasiswa yang mendukung pelaksanaan penelitian ini (Jeffrey, Felianti, dan Jennifer).

DAFTAR RUJUKAN

- Behera, B.K., and Varma, A. (2017). *Material-Balance Calculation of Fermentation Processes. In: Microbial Biomass Process Technologies and Management*. New York: Springer.
- Bonadio, M.P., de Freitas, L.A., and Mutton, M.J.R. (2018). Carotenoid Production In Sugarcane Juice and Synthetic Media Supplemented with Nutrients by *Rhodotorula rubra* 102. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(4), 872-878.
- Castelblanco-Matiz, L.M., Barbachano-Torres, A., Ponce-Noyola, T., Ramos-Valdivia, A.C., García-Rojas, C.M.C., Flores-Ortiz, C.M., Barahona-Crisóstomo, S.K., Baeza-Cancino, M.E., Alcaíno-Gorman, J., and Cifuentes-Guzmán, V.H. (2015). Carotenoid Production and Gene Expression In An Astaxanthin-Overproducing *Xanthophyllomyces dendrorhous* Mutant Strain. *Archives of Microbiology*, 197(10), 1129-1139.
- Fajar, A., Ibrahim, R., dan Dewi, E.N. (2014). Stabilitas Ekstrak Kasar Pigmen Klorofil, Beta Karoten, dan Caulerpin Alga Hijau (*Caulerpia racemosa*) pada Suhu Penyimpanan Berbeda. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(1), 1-10.
- Galal, G.F., and Ahmed, R.F. (2020). Using of Some Agro-Industrial Wastes for Improving Carotenoids Production from Yeast *Rhodotorula glutinis* 32





- and Bacteria *Erwinia uredovora* DSMZ 30080. *Microbiology Research Journal International*, 30(1), 15-25.
- Gharibzahedi, S.M.T., Razavi, S.H., and Mousavi, M. (2013). Carotenoid Production from Hydrolyzed Molasses by *Dietzia natronolimnaea* HS-1 Using Batch, Fed-Batch and Continuous Culture. *Annals Microbiology*, 64(3), 945-953.
- Lee, J.J.L., Chen, L., Shi, J., Trzcinski, A., and Chen, W.N. (2014). Metabolomic Profiling of *Rhodospiridium toruloides* Grown on Glycerol for Carotenoid Production During Different Growth Phases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(41), 1-7.
- Liu, F., and Zhu, M.J. (2017). Investigation on The Production of Carotenoid from Molasses by *Phaffia rhodozyma*. *International Journal of Modern Biology and Medicine*, 8(1), 1-13.
- Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., and Huang, W. (2015). Effect of Initial pH on Growth Characteristics and Fermentation Properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 80(4), 800-808.
- Machado, W.R.C., and Burkert, J.F.M. (2015). Optimization of Agroindustrial Medium for The Production of Carotenoids by Wild Yeast *Sporidiobolus pararoseus*. *African Journal of Microbiology Research*, 9(4), 209-219.
- Maier, R.M., and Pepper, I.L. (2015). *Microbial Transport*. In *Environmental Microbiology*. London: Academic Press.
- Mannazu, I., Landolfo, S., Silva, T.L., and Buzzini, P. (2015). Red Yeasts and Carotenoid Production: Outlining A Future for Non-Conventional Yeasts of Biotechnological Interest. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(11), 1665-1673.
- Mata-Gómez, L.C., Montañez, J.C., Méndez-Zavala, A., and Aguilar, C.N. (2014). Biotechnological Production of Carotenoids by Yeasts: An Overview. *Microbial Cell Factories*, 13(1), 1-12.
- Nasirian, N., Mirzaie, M., Cicek, N., and Levin, D.B. (2018). Lipid and Carotenoid Synthesis by *Rhodospiridium diobovatum*, Grown on Glucose Versus Glycerol, and Its Biodiesel Properties. *Canadian Journal of Microbiology*, 64(4), 277-289.
- Nutaratat, P., Srisuk, N., Arunrattiyakorn, P., and Limtong, S. (2016). Fed-Batch Fermentation of Indole-3-Acetic Acid Production in Stirred Tank Fermenter by Red Yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 21(3), 414-421.
- Tarangini, K., and Mishra, S. (2014). Carotenoid Production by *Rhodotorula* sp. on Fruit Waste Extract as A Sole Carbon Source and Optimization of Key Parameters. *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 33(3), 89-99.
- Wardani, A.K., dan Pertiwi, F.N.E. (2013). Produksi Etanol dari Tetes Tebu oleh *Saccharomyces cerevisiae* Pembentuk Flok (NRRL-Y265). *Agritech*, 33(2), 131-139.
- Warjoto, R.E., Felianti, dan Lay, B.W. (2020a). Carotenoid Production by *Rhodospiridium paludigenum* Using Cassava Starch Hydrolyzed by





Bacillus subtilis as Substrate. *Indonesian Journal of Natural Pigments*, 2(2), 36-42.

Warjoto, R.E., Jennifer, dan Lay, B.W. (2020b). Carotenoid Production by *Rhodospiridium paludigenum* Using Orange Peel Extract as Substrate. *Biosaintifika*, 12(3), 319-328.

Yimyoo, T., Yongmanitchai, W., and Limtong, S. (2011). Carotenoid Production by *Rhodospiridium paludigenum* DMKU3-LPK4 Using Glycerol as The Carbon Source. *Kasetsart Journal of Natural Sciences*, 45(1), 90-100.

Zhang, Z., Zhang, X., and Tan, T. (2014). Lipid and Carotenoid Production by *Rhodotorula glutinis* Under Irradiation/High-Temperature and Dark/Low-Temperature Cultivation. *Bioresource Technology*, 157, 149-153.

