

## IDENTIFIKASI JENIS PIGMEN DAN UJI POTENSI ANTIOKSIDAN EKSTRAK PIGMEN BAKTERI *Rhodococcus* sp HASIL ISOLASI DARI SEDI MEN SUMBER AIR PANAS GEDONG SONGO

Muhamad Fikri Zulfikar<sup>1\*)</sup>, Endang Kusdiantini<sup>1</sup>, Siti Nurjannah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof Soedarto, Kampus Undip Tembalang, Semarang 50239  
Email: zulfikar706@gmail.com

### Abstract

Pigments are the coloring agents commonly used in the pharmaceutical, cosmetic, and food industries. This compound has the ability as antibacterial, anticancer, antibiotic and antioxidant. Pigment can be obtained synthetic and natural, natural pigments can be produced by plants, animals and microbes, one of which microbes is *Rhodococcus* sp. This study was conduct to identify the pigment found in *Rhodococcus* sp and measure the antioxidant activity of pigment produced by *Rhodococcus* sp. Growth and pigments production *Rhodococcus* sp was grown on NB (Nutrient broth) medium with 96 hours incubation. This Growth was measured by dry weight cell. Identification of pigment using Thin Layer Chromatography and spectrophotometer UV-Vis. Measured of antioxidant activity *Rhodococcus* sp pigment using Carotene Bleaching methods. The results of pigments obtained from the identification by separation of pigment samples by thin layer chromatography resulted in 2 fractions on silica gel plate GF 250 with Rf values of 0.75 and 0.90. and analysis of UV-Vis spectrophotometers obtained optimum wavelengths 395 and 420 nm is beta-carotene pigments. *Rhodococcus* sp pigment measured its antioxidant activity with carotene bleaching method with the antioxidant activity value 51,24%.

*Keywords: Pigment, Rhodococcus* sp, *Pigment identification, antioxidant activity*

### Abstrak

Pigmen adalah zat pemberi warna yang lazim digunakan dalam industri farmasi, kosmetik, dan makanan. Senyawa ini memiliki kemampuan sebagai antibakteri, antikanker, antibiotik dan antioksidan. Pigmen dapat diperoleh secara sintesis dan alami, pigmen alami dapat diproduksi oleh tanaman, hewan dan mikroba, salah satunya yaitu bakteri *Rhodococcus* sp. Tujuan penelitian ini adalah, Melakukan identifikasi jenis pigmen yang terdapat pada *Rhodococcus* sp dan Mengukur aktivitas antioksidan pigmen yang di produksi oleh *Rhodococcus* sp. Pertumbuhan dan produksi pigmen bakteri *Rhodococcus* sp ditumbuhkan pada medium NB (*Nutrient broth*) dengan waktu inkubasi 96 jam. Pertumbuhan diukur berdasarkan berat kering sel. Identifikasi jenis pigmen menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dan serapan optimum spektrofotometer UV-Vis. Pengujian aktivitas antioksidan pigmen *Rhodococcus* sp menggunakan metode *Carotene Bleaching*. Hasil yang diperoleh dari identifikasi pigmen dengan pemisahan sampel pigmen dengan kromatografi lapis tipis menghasilkan 2 fraksi pada plat silica gel GF 250 dengan nilai Rf 0,75 dan 0,90. Pigmen *Rhodococcus* sp yang teridentifikasi dengan analisis serapan optimum spektrofotometer UV-Vis merupakan pigmen beta karoten dengan panjang gelombang optimum 395 dan 420 nm.

Pigmen *Rhodococcus* sp diuji aktivitas antioksidannya dengan metode *carotene bleaching* didapatkan nilai aktivitas antioksidan sebesar 51,24%.

*Kata kunci : Pigmen, Rhodococcus sp, Identifikasi pigmen, Aktivitas antioksidan*

## PENDAHULUAN

Pigmen adalah zat pemberi warna yang lazim digunakan dalam industri farmasi, kosmetik, dan makanan. Pigmen dapat diperoleh secara sintetis dan alami. Saat ini pigmen alami menjadi salah satu zat pewarna alami pengganti pewarna sintetis dalam berbagai aplikasi terutama dalam industri pangan. Pigmen alami selain dapat diperoleh dari tumbuhan atau hewan dapat juga diperoleh dari mikroorganisme seperti alga, jamur dan juga bakteri. Produksi pigmen bakteri berpotensi untuk berbagai aplikasi terutama pada industri pangan (Venil, 2013). Pigmen dapat memiliki berbagai macam peranan penting diantaranya dapat berperan sebagai sumber antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel dapat dihambat. Antioksidan dapat berupa enzim (misalnya superoksida dismutase atau SOD, katalase, dan glutathion peroksidase) disamping antioksidan yang bersifat enzimatis, ada juga antioksidan non-enzimatis yang dapat berupa senyawa nutrisi maupun non-nutrisi, antioksidan tersebut dapat diperoleh dari asupan bahan makanan, seperti vitamin C, E, A dan beta karoten (Winarsi, 2007). Antioksidan non-enzimatis banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen

yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi Vitamin C, E, A flavonoid, isoflavan, flavon, katekin, dan produk pigmen seperti pigmen karotenoid. Mikroorganisme yang dapat memproduksi pigmen karotenoid diantaranya yaitu khamir *Sporobolomyces*, *Rhodospodium*, *Rhodotorulla* (Venil, 2013) dan bakteri seperti *Rhodococcus maris* (Ichiyama, 1989).

Bakteri *Rhodococcus* menjadi salah satu bakteri yang dapat menghasilkan pigmen. Menurut Malik (2012) bakteri *Rhodococcus* dapat menghasilkan warna merah muda sampai dengan merah pekat yang ditunjukkan pada koloni bakterinya. Sehingga bakteri *Rhodococcus* memiliki potensi untuk memproduksi pigmen alami. Penelitian mengenai *Rhodococcus* dalam memproduksi pigmen masih sedikit dilakukan, penelitian terakhir dari bakteri *rhodococcus* dalam memproduksi pigmen dilakukan oleh ichiyama (1989) yang menunjukkan bahwa bakteri *rhodococcus* merupakan salah satu bakteri non fotosintetik yang mampu memproduksi pigmen karotenoid.

Kualitas pigmen ditentukan oleh jenis pigmen yang diproduksi, untuk itu identifikasi jenis pigmen sangat penting dalam menentukan komposisi jenis pigmennya. Identifikasi jenis pigmen dapat dilakukan dengan cara Kromatografi Lapis Tipis (KLT), spektrofotometer UV-VIS. Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini akan menguji potensi antioksidan dan identifikasi jenis pigmen merah jambu yang dihasilkan oleh

*Rhodococcus* sp hasil isolasi dari sedimen sumber air panas Gedong Songo dan mengukur aktivitas antioksidannya.

Tujuan penelitian ini yaitu Melakukan identifikasi jenis pigmen yang di produksi bakteri *Rhodococcus* sp. Dan Mengukur aktivitas antioksidan pigmen yang di produksi oleh *Rhodococcus* sp.

## METODE

### Mikroorganisme dan Kultur Medium

Biakan murni *Rhodococcus* sp koleksi Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, dibuat sub kultur pada media NA miring dan diinkubasi selama  $\pm$  48 jam. Biakan ini selanjutnya akan digunakan sebagai *stock culture* dan disimpan di lemari pendingin

### Pembuatan inokulum starter

Isolat dari kultur peremajaan diambil sebanyak 1 ose dan dimasukkan kedalam medium NB. Inokulum starter dibuat dalam volume 25 ml dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama  $\pm$  12 jam, kecepatan 120 rpm pada suhu ruang sampai mencapai kepadatan sel  $10^7$  CFU/ml yang diukur dengan densitas optik telah mencapai 1.0 pada panjang gelombang 600 nm (Venil, 2014)

### Pertumbuhan *Rhodococcus* sp Berat Kering Sel

Inokulum yang telah mencapai kepadatan sel  $10^7$  CFU/ml diambil dengan pipet sebanyak 5% (v/v) lalu dipindahkan ke dalam erlenmeyer berisi medium NB 100 ml. dibuat 3 kali pengulangan dan diinkubasi pada *rotary shaker* selama 96 jam kecepatan 120 rpm pada suhu ruang. Setiap 6 jam dilakukan pengambilan sampel sebanyak 1 ml dan dilakukan sentrifugasi 10000 rpm 15 menit, supernatan dipisahkan, lalu dibilas dengan aquades dan di sentrifugasi kembali, kemudian di pellet sel dikeringkan dengan oven lalu ditimbang.

### Ekstraksi pigmen

Kultur bakteri di tiap 6 jam dipanen, selanjutnya dilakukan pemisahan antara sel dari supernatan dengan cara disentrifugasi kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan dan pelet kemudian di bersihkan dengan aquades steril dan disentrifuge kembali, kemudian pelet yang didapat disuspensi dengan methanol 95% sebanyak 1:1 kemudian di vortex selama 15 menit sampai sel pecah. Larutan disentrifugasi kembali dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Larutan pigmen yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan cara diuapkan pada oven pada suhu 50 C. Konsentrasi pigmen diukur dengan menggunakan rumus (An *et.all* 1989)

$$= \frac{A (470) * 100}{(f * C)}$$

Keterangan :

A = absorbansi sampel

F = Faktor coefficient extinction ( $E^{1\% 160}$ )

C = berat kering sel

### Kromatografi Lapis Tipis

Langkah awal yang harus dilakukan dalam kromatografi Lapis Tipis disediakan pelat silika gel, setelah itu pembuatan kromatogram bagian bawah dan bagian atas pelat dibuat garis horizontal dengan jaarak 1 cm dari ujung bawah dan 1 cm dari ujung atas. Pada garis awal dibuat spot dan ditotalkan larutan pigmen yang akan danalisis menggunakan pipet kapiler. Pelat silika gel kemudian dimasukkan ke dalam bejana yang berisi eluen. Eluen yang digunakan chloroform : acetone perbandingan 8:2 (ichiyama, 1989). Setelah eluen naik sampai batas yang ditetapkan, pelat silika diangkat dari bejana, spot-spot yang terlihat ditentukan nilai  $R_f$  (Bintang, 2010).

$$R_f = \frac{\text{jarak antara titik pusat spot}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

### Analisa panjang gelombang optimum dengan Spektrofotometer UV-Vis

Fraksi atau spot yang terlihat dari hasil kromatografi lapis tipis di analisa dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperoleh nilai panjang gelombang yang di hasilkan, tiap spot pada plat silica gel di larutkan menggunakan 5 ml pelarut etanol untuk di analisa dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mencari panjang gelombang maksimum dengan rentang panjang gelombang 200-600 nm (Venil, 2014)

### Uji Aktivitas Antioksidan Metode Carotene Bleaching

Tahap ini merupakan pembuatan sistem emulsi asam linoleat-beta karoten yaitu sebanyak 5ml -karotene (0,2 mg/ml kloroform) ditambahkan ke dalam labu evaporasi berisi 0,1 ml asam linoleat 0,02 M dan 1 ml Tween 80. Kloroform diuapkan dari campuran dengan suhu 45°C, kemudian ditambahkan 250 ml aquades, lalu dikocok hingga membentuk emulsi.

Sistem emulsi yang telah dibuat sebanyak 250 ml, kemudian di bagi menjadi 5 bagian dengan masing-masing volume 50 ml pada gelas Erlenmeyer. Sebanyak 2 ml sampel 0,5% (w/v) di berikan ke tiap sistem emulsi asam linoleat-beta karoten dengan kontrol negatif yaitu etanol kontrol positif BHT dan sampel pigmen *Rhodococcus* sp kemudian ditempatkan pada penangas air pada suhu 50°C selama 120 menit. Absorban diukur setiap 15 menit pada panjang gelombang 470 nm (Bintang, 2010).

Peluruhan warna jingga karoten ditunjukkan dengan penurunan absorbansi dan aktivitas antioksidan dapat dievaluasi dengan menggunakan persamaan (Jayaprakasha, 2001):

$$AA = 100 \left[ 1 - \left( \frac{A_o - A_t}{A_o^0 - A_t^0} \right) \right]$$

Keterangan :

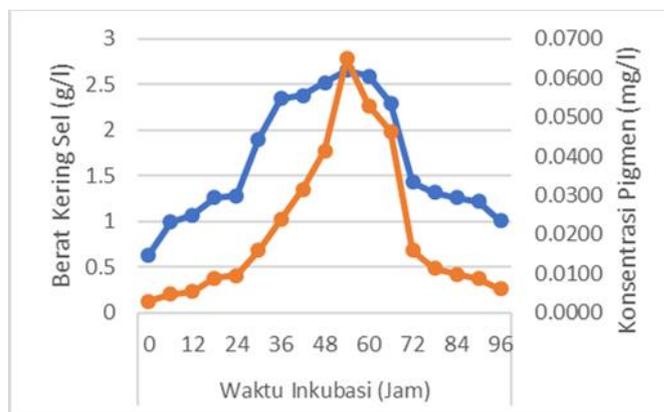
AA = Presentase Peluruhan  
 $A_o$  dan  $A_o^0$  = Absorbansi yang terukur pada menit ke nol inkubasi sampel

$A_t$  dan  $A_t^0$  = Absorbansi yang terukur pada menit ke 120 inkubasi sampel

### Hasil dan Pembahasan

#### Pertumbuhan dan Produksi Pigmen

Pengukuran pertumbuhan dan produksi pigmen oleh bakteri *Rhodococcus* sp pada medium *Nutrien Broth* waktu inkubasi 0-96 jam pada suhu ruang dan agitasi 80 rpm. Medium NB digunakan sebagai media tumbuh karena pada medium NB sudah memenuhi kebutuhan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri *Rhodococcus*. Menurut Shaikh (2016), medium NB mengandung komponen utama, yaitu pepton, ekstrak daging, dan *yeast extract*. Pepton menyediakan sumber nitrogen, sulfur, dan sumber energi bagi bakteri. Ekstrak daging dan *yeast extract* merupakan sumber asam amino, vitamin, koenzim, dan faktor pertumbuhan bakteri.



Keterangan

- berat kering sel
- konsentrasi pigmen

Berdasarkan gambar 4.1 Grafik pertumbuhan bakteri *Rhodococcus* sp menunjukkan bahwa pertumbuhan sel pada umur 0 inkubasi sudah mempunyai biomassa sel sebesar 0,63 g/l. Hal ini

dikarenakan pada penelitian ini digunakan starter yang ditumbuhkan pada medium yang sama dengan medium pertumbuhan agar supaya fase adaptasi berjalan sependek mungkin dan langsung memasuki fase logaritmik. Starter yang digunakan memiliki *optical density* (OD) 1,003, yang menunjukkan kerapatan  $3,04 \times 10^8$  CFU/mL. Perhitungan kerapatan bakteri tersebut sesuai dengan standart McFarland (1907) bahwa OD 1,0 setara dengan  $3,0 \times 10^8$  CFU/mL. Fardiaz (1987) menjelaskan bahwa cepat atau lamanya fase adaptasi bergantung pada beberapa kondisi, di antaranya kondisi morfologis dan fisiologis dari mikroorganisme yang ditumbuhkan, serta banyak sedikitnya jumlah sel yang diinokulasikan.

Kecepatan perbanyakan sel mulai terlihat saat melewati waktu inkubasi 0-36 Pada fase ini sel-sel membelah dengan cepat, dimana pertambahan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik (Waluyo, 2004). Kecepatan perbanyakan sel mulai menurun saat memasuki waktu inkubasi 36 jam sampai 66 jam menunjukkan bakteri ini telah memasuki fase pertumbuhan stasioner.

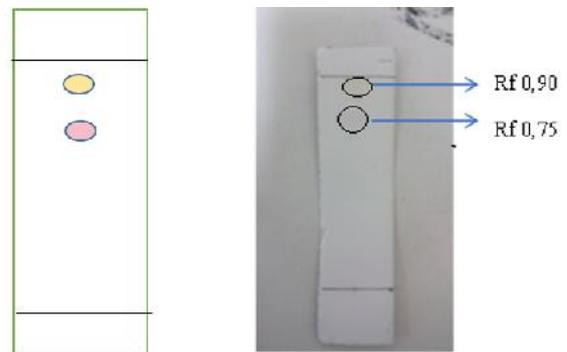
Fase stasioner pada pertumbuhan bakteri merupakan waktu dimana bakteri mulai mensintesis metabolit sekunder. Menurut Chavez (2010) Metabolit sekunder mikroba merupakan suatu metabolit yang diproduksi dengan jumlah kecil yang di produksi saat pertumbuhan sel diperlambat (*idiophase*). Produksi metabolit sekunder dipicu selama kekurangan nutrisi, tekanan lingkungan, dan kondisi pertumbuhan yang terbatas. Pada fase stasioner mikroba dapat memproduksi metabolit sekunder diantaranya yaitu senyawa antimikroba atau pigmen.

Berdasarkan Gambar 4.1. Pigmen *Rhodococcus* sudah mulai diproduksi saat sel bakteri *Rhodococcus sp* berada pada fase pertumbuhan eksponensial. Hal ini dikarenakan pada fase eksponensial, sel bakteri sudah banyak berkembang dalam

kondisi pertumbuhan yang sesuai. Menurut Irdawati (2010), kadar pigmen akan terus meningkat dengan berjalannya waktu fermentasi namun hanya sampai pada waktu fermentasi tertentu. Kemudian produksi pigmen optimum *Rhodococcus sp* dicapai pada waktu inkubasi 54 jam dengan jumlah konsentrasi pigmen sebesar 0,0650 mg/l. Waktu inkubasi dengan produksi pigmen tertinggi tersebut berada pada fase stasioner Pertumbuhan bakteri *Rhodococcus sp* waktu dimana metabolit sekunder pigmen dibentuk.

### Identifikasi Jenis Pigmen Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan pigmen menggunakan plat silica gel GF<sub>254</sub> sebagai fase diam dan eluen chloroform : acetone (8:2) sebagai fase gerak. Hasil dari kromatografi lapis tipis. Sampel pigmen yang dipisahkan membentuk 2 fraksi ditunjukkan pada gambar 4.2 dan Tabel 4.3 berikut:



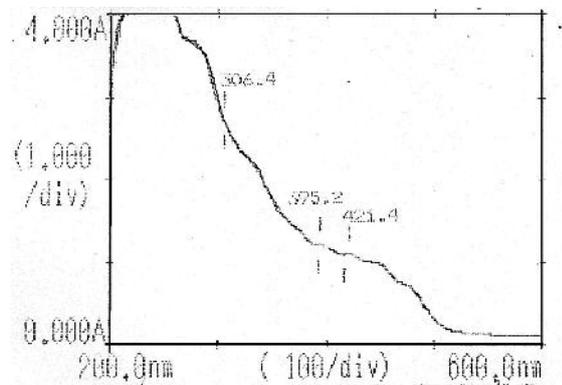
Berdasarkan hasil kromatografi yang ditunjukkan pada gambar 4.2. diketahui bahwa sampel pigmen *Rhodococcus* menghasilkan 2 fraksi. pada fraksi pertama memiliki nilai faktor retardasi (*Rf*) sebesar 0,75 dan fraksi tersebut menghasilkan warna kuning dan fraksi kedua memiliki nilai *Rf* 0,90 dan menghasilkan warna pink.

Berdasarkan data tersebut dapat diketahui adanya perbedaan fraksi pada plat KLT, hal tersebut disebabkan tingkat kepolaran dari fraksi dan nilai *Rf* yang

dihasilkan, dari kedua fraksi yang dihasilkan tersebut fraksi pertama memiliki tingkat kepolaran yang tinggi dibandingkan dengan fraksi kedua menurut kowalska (2003) Jika pelarut memiliki polaritas terlalu tinggi, semua komponen dalam campuran akan bergerak bersama dengan pelarut sehingga Rf yang dihasilkan sangat besar.

### Analisis Spektrofotometer UV-Vis

Hasil analisis pigmen berdasarkan serapan optimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 200-600 nm didapatkan hasil sebagai berikut



**Gambar 4.3.** Grafik serapan optimum Spektrofotometer UV-Vis

Berdasarkan gambar 4.3. grafik tersebut merupakan nilai serapan optimum dari sampel pigmen *Rhodococcus* sp pada rentang panjang gelombang 200-600 nm. Pada rentang panjang gelombang tersebut terbentuk *peak* atau getaran dari grafik. Peak tersebut menunjukkan serapan optimum dari sampel pigmen, dengan nilai panjang gelombang yang dihasilkan 306, 395 dan 421 nm.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari analisis kromatografi lapis tipis dan analisis serapan optimum spektrofotometer UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 200-600 nm sehingga dapat

mengetahui jenis pigmen yang diproduksi oleh *Rhodococcus* sp

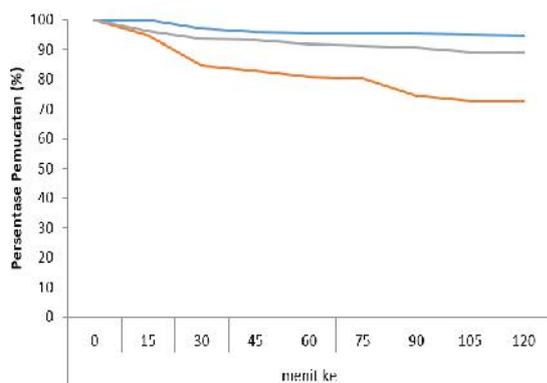
Fraksi	Warna	Nilai Rf	Panjang gelombang optimum		Jenis pigmen
			Eksperimen	Literature	
1	Kuning	0,90	395,421	395,420	Beta karoten
2	Pink	0,7	306	-	Unidentified

**Tabel 4.2.** Hasil analisis kromatografi lapis tipis dan serapan maksimum spektrofotometer pigmen bakteri *Rhodococcus* sp

Berdasarkan tabel diatas jenis pigmen dari bakteri *Rhodococcus* yang teridentifikasi pada fraksi noda pertama termasuk kedalam jenis pigmen karotenoid, hal ini berdasarkan hasil analisis serapan optimum spektrofotometer UV-Vis didapatkan panjang gelombang sebesar 395, 421 nm. Menurut britton (1995) hampir semua senyawa karotenoid terletak pada panjang gelombang optimum antara 350-500 nm. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh ichiyama (1989) yang melakukan identifikasi pigmen *Rhodococcus* sp dengan nilai faktor retardasi (*Rf*) 0,90-0,95 dan serapan optimum spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 420, 450, nm. merupakan pigmen beta-karoten.

### Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan di uji dengan mengukur absorbansi dari sampel dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 470 nm. Kemudian dengan data absorbansi akan di dapat presentase pemucatan sistem emulsi yang diukur setiap 15 menit. Data grafik pemucatan system emulsi dapat dilihat pada gambar berikut :

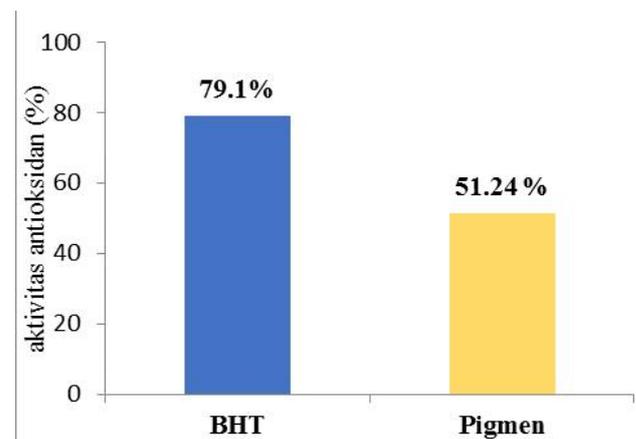


**Gambar 4.4** Grafik Pemucatan

Berdasarkan Grafik 4.4 dapat di ketahui bahwa di tiap sampel mengalami penurunan grafik pemucatan, akan tetapi terlihat jelas perbedaan di tiap masing-masing sampel terhadap penurunan grafik tersebut dalam mempertahankan dan mencegah peluruhan warna jingga beta-karoten. Pada grafik tersebut dapat dilihat bahwa sampel pigmen *Rhodococcus* sp cukup mampu mempertahankan peluruhan warna jingga karoten akibat oksidasi yang didasari pada penurunan grafik yang landai dan berada diantara sampel kontrol positif (BHT) dan sampel kontrol negatif (metanol) yang menunjukkan bahwa pigmen *Rhodococcus* mampu bertindak sebagai antioksidan, karena menghambat proses oksidasi dari asam linoleat dan beta karoten selama terjadi pemanasan pada sistem emulsi tersebut. Senyawa antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas yang terbentuk pada tahap awal reaksi akibat inisiator panas, untuk mencegah reaksi lebih lanjut antara radikal bebas dengan oksigen yang dapat menghasilkan radikal peroksida yang sangat reaktif untuk selanjutnya, antioksidan juga berfungsi untuk menetralkan radikal peroksida dengan melepaskan atom hidrogen, sehingga radikal yang terbentuk selama proses oksidasi tersebut akan terstabilkan akibat berikatan dengan atom hidrogen yang berasal dari senyawa antioksidan yang terdapat dalam sampel uji (Othman, 2005).

Sampel kontrol negatif menggunakan metanol tidak mampu mempertahankan peluruhan warna jingga karoten akibat oksidasi yang didasari pada penurunan grafik yang curam. Menurut Burthor, (1998 dalam Utami 2011) Hal ini disebabkan pada sampel kontrol negatif (metanol) hanya berperan sebagai pelarut dan tidak memiliki kemampuan bertindak sebagai antioksidan dalam menghambat proses oksidasi dari asam linoleat dan beta karoten selama terjadi pemanasan pada sistem emulsi.

Hasil yang didapatkan dari perhitungan aktivitas antioksidan sampel pigmen *Rhodococcus* sp kemudian dibandingkan dengan kontrol positif di dapatkan



aktivitas BHT sebesar 79.1% BHT dan pigmen *Rhodococcus* sebesar 51.2%. Data hasil aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 4.5

**Gambar 4.5** Aktivitas Antioksidan Pigmen bakteri *Rhodococcus* sp

Sampel kontrol positif menggunakan BHT memiliki tingkatan aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu sebesar 79,1 %. BHT memiliki keefektifan sebagai antioksidan yang tinggi, seperti yang telah diketahui bahwa BHT merupakan salah satu antioksidan sintetis yang memiliki kemampuan dalam mencegah oksidasi. Menurut Bintang (2010) BHT (*Buthyl hydroxyl toluene*) atau disebut juga *Dibuthylhydroxy toluene* merupakan

komponen *lipophilic organic* yang secara kimia merupakan derivat dari fenol, yang digunakan sebagai antioksidan. BHT memiliki keefektifan sebagai antioksidan yang paling tinggi walaupun memiliki satu gugus hidroksil (-OH) dan jumlah resonansi yang sama dengan eugenol, tetapi lebih bersifat nonpolar di banding senyawa lainnya, karena adanya gugus alkil yang lebih tersubstitusi yaitu t-butil (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), selain itu jumlah kecil BHT digunakan sebagai bahan aditif pada makanan, BHT juga banyak di gunakan untuk mencegah okidasi dalam cairan seperti bahan bakar minyak dan bahan lain dimana radikal bebas harus dikendalikan.

Sampel Pigmen *Rhodococcus* sp memiliki tingkat antioksidan sebesar 51,24 %. hal tersebut menunjukkan bahwa Pigmen *Rhodococcus* sp berpotensi sebagai sumber antioksidan. hal tersebut dibuktikan Pada penelitian yang sama yaitu sampel pigmen yang dihasilkan oleh *Rhodotorulla sloffiae* yang juga menghasilkan pigmen beta karoten memiliki aktivitas antioksidan sebesar 57,91% dengan menggunakan metode evaluasi antioksidan *carotene bleaching* (Hanachi,2016)

### Kesimpulan

Pigmen *Rhodococcus* sp memiliki waktu optimum produksi pigmen pada waktu inkubasi 54 jam dengan total produksi pigmen yang dihasilkan sebesar 0.065mg/ml. jenis pigmen *Rhodococcus* sp yang teridentifikasi dengan metode kromatografi lapis tipis dan spektrofotometer UV-Vis yaitu beta karoten, dan memiliki aktifitas antioksidan sebesar 51,24%

### Daftar Pustaka

- Ann GH, Suchman DB, Johnson EA, 1989 Isolation of *Phaffia Rhodozyma* , a Red Pigmenting Yeast, *Phytochemistry*, Vol 15 : 116-114
- Bintang, M., 2010 *Biokimia: Teknik Penelitian*. Jakarta. Erlangga
- Britton G, Jensen SL, Pvander, H, 1995 *Carotenoids Isolation and Analysis, Berkhauer verlag Berlin p11*
- Hannachi P, Naghafi FS, 2016, Evaluation of Antioxidant Activity of *R. Slooffiae*, *R. Mucilaginoso* Extracts, *Electronic physician* Vol 8: 3110-3115
- Ichiyama S, Shimokata K, Tsukamura M. 1989. Carotenoid Pigments of Genus *Rhodococcus*. *Microbiology and Immunology*. 33 (6): 503 – 508
- Jayaprakasha, G.K, 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Journal Food Chemistry*. Vol 73.pp. 285-290
- Kowalska, Waksmundzka-Hajnos M, Sherma J and Kowalska T. 2008; *Overview of the Field of TLC in Phytochemistry and the Structure of the Book*. Monika Waksmundzka Hajnos, Joseph Sherma and, editors. In: *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry, Chromatographic Science Series*. CRC Press, London, New York.
- McFarland J. 1907,: an instrument for media used for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *J Am Med Assoc* 1907; 14:1176-8
- Othman, Azizah, et. al., (2005),”Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans”,*Journal of Food Chemistry*,100,hal. 1523-1530
- Shaikh, Z. 2016. Biosynthesis of Prodigiosin and Its Applications. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 11(6): 01-28
- Utami, T.S. Hermansyah, H dan Reza, A..2009 Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Simpupur (*Dillenia indica*) dari

Berbagai Metode Ekstraksi dengan Uji ANOVA. *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia – SNTKI*, Bandung.

Venil CK, Lakshmanaperumalsamy P 2009. An insightful overview on microbial pigmen: prodigiosin. *Journal Biological Pigments* 5(3):49–61

\_\_\_\_\_ 2010 flexirubin type pigment from *Chryseobacterium* sp. UTM-3T. *Journal of Biocatalyst and Agricultural Biotechnology*.

Winarsi, H 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kansius, Yogyakarta



