

Isolasi dan Karakterisasi Mikroorganisme Penghasil Pigmen dari Limbah Kulit Kentang

F Fibriana¹✉ AV Amalia¹, I Mubarok²

¹Jurusan IPA Terpadu, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

²Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima 11 Januari 2017
Disetujui 23 Maret 2017
Dipublikasikan 1 April 2017

Keywords:
microorganisms; natural pigment; potato peel

Abstrak

Aplikasi pewarna sintetis sangat digemari dalam berbagai proses industri karena mudah diperoleh dengan harga yang terjangkau. Akan tetapi, penggunaan pewarna sintetis secara berlebihan dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan masalah kesehatan dan lingkungan yang serius. Masalah yang muncul akibat penggunaan pewarna sintetis menginduksi ketertarikan dunia industri untuk beralih memanfaatkan pigmen alami. Dalam penelitian ini, dilakukan isolasi dan identifikasi mikroorganisme penghasil pigmen dari limbah kulit kentang. Enam isolat bakteri, jamur benang dan khamir berhasil diperoleh, dengan nama isolat B1, B2, J1, J2, J3, dan K1. Identifikasi secara morfologi pada koloni dan sel menunjukkan bahwa isolat B1 merujuk pada genus *Bacillus*, sedangkan isolat B2 merujuk pada genus *Streptococcus*. Isolat J1 memiliki karakteristik yang mirip dengan genus *Trichoderma*, sedangkan isolat J2 dan J3 memiliki ciri yang hampir sama dengan genus *Aspergillus*. Terakhir, isolat K1 memiliki karakteristik yang merujuk pada genus *Geotrichum*. Hasil penelitian ini merupakan referensi untuk penelitian selanjutnya yaitu identifikasi spesies mikroorganisme secara molekuler menggunakan teknik PCR, sekuensing dan pencocokan homologi di database gene bank, serta mengenai karakterisasi dan aplikasi pigmen pada proses pewarnaan batik.

Abstract

*Application of synthetic dyes is very popular in many industrial processes because it is easily obtained at an affordable price. However, an excessive use of synthetic dyes in the long period can cause the serious health and environmental problems. Problems arising from the use of synthetic dyes induce the interest in the industrial field come back to utilize the natural pigments. In this study, we conducted the isolation and identification of pigment-producing microorganisms from potato peel. Six isolates of bacteria, fungi and yeasts were successfully acquired, by the name of isolates B1, B2, J1, J2, J3, and K1. Identification of the colony and cell morphology showed that isolates B1 refers to the genus *Bacillus*, whereas isolates B2 refers to the genus *Streptococcus*. Isolates J1 has characteristics similar to genus *Trichoderma*, while isolates J2 and J3 have characteristics similar to genus *Aspergillus*. Finally, isolates K1 has a characteristic that refers to the genus *Geotrichum*. The results of this study can be used as a reference for future research, i.e. the identification of species name using sequencing techniques and homology searching at the gene bank database, as well as the characterization and application of pigment in the dyeing process of batik.*

© 2017 Universitas Negeri Semarang

PENDAHULUAN

Aplikasi pewarna sintetis dalam berbagai proses industri sangat populer di seluruh dunia karena pewarna sintetis mudah diperoleh dengan harga yang terjangkau. Akan tetapi, penggunaan pewarna sintetis secara berlebihan dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan masalah kesehatan dan lingkungan yang serius. Pewarna artifisial ini banyak digunakan dalam industri makanan, kosmetik, farmasi, dan tekstil. Penggunaan pewarna sintetis juga masih menjadi andalan para produsen batik di seluruh wilayah di Indonesia. Produsen harus melakukan *treatment* yang serius pada limbah industri batik sebelum dibuang guna mencegah kerusakan lingkungan karena cemaran limbah batik. Di Indonesia, sebagian besar industri batik adalah *home industry*. Debit limbah yang dihasilkan sulit untuk diolah secara terpusat, sehingga instalasi pengolahan limbah industri batik masih dilakukan secara sederhana, bahkan ada yang dibuang secara langsung ke badan air. Padahal, kandungan terbesar dalam limbah industri batik adalah zat warna dari pencucian kain, unsur nitrogen (N), sulfur (S), magnesium (Mg), timbal (Pb), kromium (Cr), seng (Zn), tembaga (Cu), besi (Fe), cadmium (Cd), dan air raksa (Hg), padatan tersuspensi, serta minyak-lemak yang tinggi (Sugiharta 1987). Kandungan limbah ini dapat berdampak buruk terhadap ekosistem tanah dan air di sekitar lokasi industri batik.

Masalah yang muncul akibat penggunaan pewarna sintetis menginduksi ketertarikan dunia industri untuk beralih memanfaatkan pigmen alami (Kim *et al.* 1995). Pigmen alami dapat diperoleh dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme (Dawson 2009). Akan tetapi, pewarna alami yang berasal dari tumbuhan dan hewan memiliki beberapa kelemahan yaitu ketidakstabilan warna jika terpapar cahaya, panas, perubahan pH, rendahnya kelarutan dalam air dan ketidaktersediaannya sepanjang tahun. Pewarna alami yang diperoleh dari bagian tumbuhan dan hewan dapat menyebabkan kematian tumbuhan atau hewan tersebut jika dieksplorasi secara terus menerus. Lebih jauh lagi, kematian tumbuhan dan hewan dapat merusak keseimbangan ekosistem. Sebaliknya, pigmen yang berasal dari

mikroorganisme memiliki beberapa keunggulan, yaitu memiliki stabilitas kimia yang baik, ketahanan warna terhadap paparan cahaya, serta volume hasil produksi yang tinggi (Gunasekaran & Poorniammal 2008).

Pewarna alami tidak banyak diaplikasikan dalam industri batik. Meskipun demikian, tren perkembangan penggunaan bahan pewarna alami yang *eco-friendly* dalam industri batik akan berjalan secara lambat namun pasti. Beberapa produsen batik di Semarang telah menggunakan pewarna alami yang diperoleh dari propagul *mangrove*, kayu nangka, kayu johor, kayu secang, dan daun indigo. Akan tetapi, kendala besar yang dialami produsen batik pewarna alami adalah ketika volume produksi yang tinggi tidak diikuti dengan ketersediaan sumber pewarna yang mencukupi, sehingga menghambat proses produksi. Oleh karena itu, diperlukan sebuah penelitian tentang pewarna alami batik yang diperoleh dari mikroorganisme. Sebagai contoh, pigmen mikroorganisme sangat potensial karena mikroorganisme memiliki kemampuan untuk tumbuh secara cepat dalam medium kultur yang murah, sifat yang independen terhadap kondisi cuaca dan musim, banyaknya variasi *bio-pigment* yang dapat diperoleh, serta proses fermentasi yang dapat dikontrol secara efisien (Joshi *et al.* 2003; Malik *et al.* 2012; Venil *et al.* 2013). Molekul warna yang diproduksi oleh mikroorganisme antara lain *indigo*, *melanins*, *flavins*, *carotenoids*, *phenazines*, *quinones*, *violacein* dan *prodigiosins* (Dufosse 2009; Nigam *et al.* 2009). Beberapa strain mikroorganisme bersifat multifungsi karena selain menghasilkan pigmen, juga menghasilkan aktivitas antibiotik, antifungal, dan antikanker (Dufosse 2009; Nigam *et al.* 2009). Penggunaan isolat lokal strain mikroorganisme melalui teknik isolasi yang sederhana dapat dilakukan untuk mengurangi biaya produksi pigmen. Selain itu, biaya produksi pigmen mikroorganisme juga dapat dikurangi dengan menggunakan limbah rumah tangga dan limbah agro-industri sebagai medium kultur (Venil *et al.* 2013).

Dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi mikroorganisme penghasil pigmen dari limbah kulit kentang untuk memperoleh mikroorganisme penghasil pigmen yang potensial

untuk diaplikasikan dalam proses pewarnaan batik Semarang.

METODE

Sampel Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang. Sampel dalam penelitian ini adalah limbah kulit kentang yang diperoleh dari limbah rumah tangga. Limbah kulit kentang yang diperoleh kemudian disimpan dalam botol Schott ukuran 250 ml yang telah disterilisasi, kemudian disimpan pada suhu 4 °C untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium.

Pembuatan Medium Pertumbuhan Bakteri

Nutrient Broth (NB) dan *Nutrient Agar* (NA), serta *Plate Count Agar* (PCA) (Merck, Germany) digunakan sebagai medium pertumbuhan mikroorganisme. Medium disterilisasi dengan cara memasukkannya ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya, medium broth dan medium agar diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C untuk memastikan ada tidaknya kontaminasi.

Isolasi Strain Bakteri Penghasil Pigmen

Sebanyak 1 g kulit kentang ditumbuk menggunakan *mortar* dan *pestle*. Setelah halus, kulit kentang dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml medium NB steril. Kemudian campuran tersebut dihomogenkan dengan *vortex*. Suspensi kulit kentang selanjutnya diinkubasi dengan *shaking* 200 rpm selama 24 jam pada suhu 30 °C. Setelah inkubasi, suspensi kulit kentang diambil sebanyak 1 ml dan dituang (metode *pour plate*) pada medium NA dan medium (PCA). Setelah itu, medium diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Subkultur dilakukan sampai diperoleh koloni tunggal (Ahmad *et al.* 2012).

Karakterisasi Morfologi, Isolasi DNA, dan Amplifikasi DNA

Isolat tunggal mikroorganisme dikarakterisasi secara morfologi, yaitu dengan melakukan pengamatan pada karakteristik bentuk koloni dan warna koloni, serta pengamatan karakteristik morfologi sel bakteri dengan

pengecatan Gram dan pengecatan sederhana. Selanjutnya, masing-masing isolat mikroorganisme yang memiliki pigmen dipilih dan dikultur sampai diperoleh pellet yang cukup untuk proses isolasi DNA. Proses isolasi DNA menggunakan kit ekstraksi DNA bakteri mengikuti protokol dari **Vivantis GF-1 Bacterial DNA Extraction Kit** (Vivantis, Malaysia) sedangkan ekstraksi DNA khamir dan kapang mengikuti protokol dari DNA *Presto™ Mini gDNA Yeast Kit* (Geneaid Biotech Ltd., Taipei, Taiwan). Campuran (*master mix*) sebanyak 12,5 µl yang terdiri atas 10 ng DNA template, 0,5 µl masing-masing primer forward primer: 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') dan reverse primer: 1492R (5'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-3') untuk sampel DNA bakteri dan ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3') serta ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') untuk sampel DNA khamir dan kapang. kemudian ditambah 0,6 µl dNTP mix, buffer 1X dan enzim *Taq polymerase*, kemudian campuran dimasukkan ke dalam tabung PCR 0,2 ml. Tabung yang berisi campuran larutan 12,5 µl dimasukkan ke dalam mesin *Thermal Cycler* dengan kondisi suhu denaturasi awal 94 °C selama 3 menit, diikuti 25 siklus denaturasi pada 94 °C selama 1 menit, dilanjutkan *annealing* pada suhu 50 °C selama 45 detik, ekstensi selama 2 menit pada suhu 72 °C. Pos ekstensi dilakukan pada suhu 72 °C selama 10 menit. Keberhasilan PCR dianalisis melalui elektroforesis dengan gel agarose.

Elektroforesis Gel Agarose

Hasil isolasi DNA dilihat menggunakan elektroforesis gel agarose 0,8%; sedangkan hasil PCR divisualisasikan menggunakan gel agarose 1,2%. Agarose sebanyak 0,8 gram dilarutkan dalam 100 ml buffer TAE 1X, selanjutnya dipanaskan dalam *microwave* selama 3 menit. EtBr sebanyak 2 µl ditambahkan dalam larutan agarose dalam kondisi suhu hangat. Larutan agarose dituangkan dalam cetakan yang telah dilengkapi dengan sisir dan didiamkan sampai gel mengeras. Elektroforesis dilakukan menggunakan buffer TBE 1X, *loading dye* sebanyak 2 µl dicampurkan dengan 4 µl sampel DNA mikroorganisme menggunakan pipet mikro kemudian dimasukkan ke dalam sumur gel dengan hati-hati. Elektroforesis dijalankan pada 100 volt selama 30 menit. Setelah elektroforesis selesai, gel dimasukkan ke dalam UV

transiluminator untuk mengetahui pita DNA hasil isolasi kemudian diambil foto sebagai dokumentasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi mikroorganisme penghasil pigmen diperoleh 6 isolat. Isolat bakteri berwarna krem diberi nama B1, sedangkan isolat bakteri yang berwarna putih diberi label B2. Selanjutnya, isolat jamur benang yang berwarna hijau diberi nama J1, isolat yang berwarna kuning diberi label J2, dan isolat yang berwarna cokelat diberi label J3.

Koloni khamir yang berwarna krem diberi nama isolat K1. Setelah dilakukan proses isolasi dan purifikasi, semua mikroorganisme bakteri, jamur benang, dan khamir dikarakterisasi secara morfologi (morfologi koloni dan morfologi sel). Sampel B1, B2, J1, J2, J3, dan K1 disubkultur pada media agar. Masing-masing isolat ditumbuhkan selama 24-72 jam dan diobservasi bentuk morfologi koloninya. Sedangkan morfologi sel diobservasi di bawah mikroskop ketika isolat berumur 72 jam. Karakter koloni dan karakter sel mikroorganisme yang diobservasi disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakter morfologi koloni dan sel isolat bakteri, jamur benang, dan khamir yang diperoleh dari limbah umbi kentang

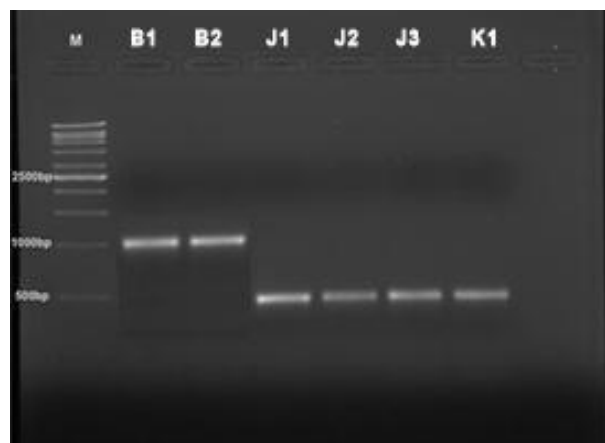
Kode sampel	Jenis isolat	Karakter morfologi koloni					Karakter morfologi sel		
		Warna	Bentuk	Margin	Tekstur	Elevasi	Gram	Bentuk	Spora
B1	Bakteri	<i>creamish brown</i>	<i>circular</i>	<i>entire</i>	<i>mucoïd</i>	<i>convex</i>	Gram +	<i>short rod</i>	<i>No</i>
B2	Bakteri	<i>creamish white</i>	<i>irregular</i>	<i>undulate</i>	<i>wrinkled</i>	<i>umbonate</i>	Gram +	<i>cocci</i>	<i>No</i>
J1	Jamur benang	<i>green</i>	<i>filamentous</i>	<i>filiform</i>	<i>powdery</i>	<i>flat</i>	-	<i>filamentous with clear septate</i>	<i>green spore</i>
J2	Jamur benang	<i>yellow</i>	<i>filamentous</i>	<i>filiform</i>	<i>velvety</i>	<i>flat</i>	-	<i>filamentous with clear septate</i>	<i>black spore</i>
J3	Jamur benang	<i>brown</i>	<i>filamentous</i>	<i>filiform</i>	<i>velvety</i>	<i>flat</i>	-	<i>filamentous with clear septate</i>	<i>dark spore</i>
K1	Khamir	<i>creamish white</i>	<i>irregular</i>	<i>undulate</i>	<i>mucoïd</i>	<i>raised</i>	-	<i>short hyphae with clear septate</i>	<i>no</i>

Teknik karakterisasi dan identifikasi morfologi mikroorganisme merupakan langkah yang sulit. Teknik tersebut memerlukan tingkat keakuratan yang tinggi untuk memperoleh identitas mikroorganisme yang tepat. Ketepatan identitas mikroorganisme berperan penting dalam aplikasi mikroorganisme tersebut dalam ilmu klinis, patologi tanaman, bioteknologi, dan studi lingkungan (Guarro *et al.* 1999). Sebenarnya, selain observasi secara morfologi, teknik yang lain seperti uji fisiologi, uji biokimia, komposisi dinding sel dan protein, keberadaan toksin, dan teknik molekuler diperlukan untuk proses klasifikasi dan

identifikasi yang lebih akurat. Dalam studi ini, dilakukan karakterisasi morfologi koloni dengan pengamatan langsung, serta karakterisasi morfologi sel di bawah mikroskop. Koloni bakteri tumbuh dengan cepat pada suhu 37 °C selama 24 jam, sedangkan koloni jamur benang dan khamir tumbuh dengan lambat pada suhu tersebut selama 72 jam. Berdasarkan karakter morfologi koloni dan sel, disimpulkan bahwa bakteri B1 merujuk pada genus *Bacillus* dan bakteri B2 merujuk pada genus *Streptococcus*. Ketiga isolat jamur benang menunjukkan karakter yang spesifik pada masing-masing koloni. Berdasarkan karakterisasi

morfologi koloni, jamur benang J1 memiliki ciri-ciri yang identik dengan genus *Trichoderma*, sedangkan jamur benang isolat J2 dan J3 memiliki ciri karakter yang sama dengan genus *Aspergillus*. Isolat khamir yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki karakteristik morfologi yang merujuk pada genus *Geotrichum*. Karakteristik morfologi bakteri, jamur benang, dan khamir yang diobservasi dalam penelitian ini belum dapat memastikan dengan pasti nama jenis dan nama strain mikroorganisme tersebut. Teknik identifikasi lanjut menggunakan metode molekuler dapat diaplikasikan untuk mengetahui identitas spesies dan nama strain suatu mikroorganisme. Karakterisasi mikroorganisme secara morfologi yang didukung dengan karakterisasi molekuler telah dilakukan oleh banyak peneliti. Fibriana (2014) melakukan karakterisasi morfologi dan karakterisasi molekuler pada spesies jamur benang yang diisolasi dari tanah dan limbah yang tercemar di kawasan industri minyak kelapa sawit. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa karakterisasi secara molekuler mendukung hasil karakterisasi morfologi hingga diperoleh nama spesies hingga takson yang paling rendah yaitu nama strain mikroorganisme.

Masing-masing proses PCR menghasilkan produk amplifikasi yang berbeda-beda. Pada isolat bakteri, amplifikasi daerah 16S menghasilkan produk berukuran sekitar 1500 bp, sedangkan pada isolat jamur benang dan khamir menghasilkan produk amplifikasi daerah ITS1 serta ITS4 berukuran kurang lebih 500 bp (Gambar 1). PCR merupakan teknik yang cepat untuk deteksi dan analisis DNA. Bintari *et al.* (2014) melakukan penelitian deteksi mikroorganisme pencemar di dalam sampel tempe. Teknik PCR terbukti menjadi analisis yang akurat untuk mendeteksi keberadaan bakteri patogen di dalam sampel tempe. Fibriana dan Hadiyanti (2016) menggunakan teknik PCR-RFLP untuk mengamplifikasi region ITS spesies durian untuk mendeteksi polimorfisme pada DNA durian lokal Jawa Tengah. Teknik PCR ini terbukti akurat untuk mengamplifikasi region ITS1 dan ITS4 dengan menghasilkan produk PCR sebesar 850 bp. Hasil amplifikasi DNA dalam penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi untuk analisis sekuensing DNA.



Gambar 1. Hasil amplifikasi daerah 16S pada DNA bakteri isolat B1 dan B2 berukuran 1500 bp, dan ITS1 serta ITS4 pada DNA jamur benang isolat J1, J2, J3 dan khamir K1 berukuran 500 bp.

Dalam penelitian ini, diperoleh enam isolat mikroorganisme yang memiliki potensi untuk digunakan pigmennya dalam proses pewarnaan batik. Masing-masing isolat memiliki pigmen yang spesifik yaitu krem, putih, kuning, hijau, dan coklat. Ketika dikultur di dalam media cair, masing-masing pigmen memiliki kemampuan yang berbeda untuk berdifusi ke dalam media. Jenis isolat yang memberikan warna pigmen yang kuat adalah bakteri isolat B1, jamur benang J2 dan khamir K1. Kemungkinan jika pigmen ketiga isolat tersebut diaplikasikan sebagai pewarna batik, akan memberikan warna alami yang unik.

Pigmen yang dihasilkan oleh bakteri, jamur benang, dan khamir perlu melalui proses ekstraksi dan karakterisasi lanjut untuk mengetahui karakter biokimia dan aplikasinya dalam proses pewarnaan batik. Diperlukan analisis lebih lanjut untuk mengetahui pigmen mikroorganisme tersebut memiliki tingkat kelarutan yang tinggi di dalam air atau pelarut organik. Selain itu, diperlukan langkah untuk menganalisis kemampuan keterserapan pigmen ke dalam serat kain serta ketahanan pigmen terhadap pemanasan. Teknik pewarnaan batik umumnya menggunakan pemanasan. Pemanasan pada saat proses pewarnaan, dapat mengubah sifat warna pigmen. Seperti penelitian Alihosseini *et al.* (2008), menunjukkan bahwa prodigiosin yang diperoleh dari mikroba tidak stabil dalam proses pemanasan. Kramar *et al.* (2014) meneliti pigmen yang

diperoleh dari *Streptomyces* sp. memiliki sensitivitas terhadap pH. Perubahan pH pelarut mempengaruhi kemampuan solubilitas pigmen ke dalam pelarut. Oleh karena itu, diperlukan analisis lanjut mengenai pengaruh perubahan pH pelarut terhadap karakter solubilitas pigmen. Selain itu, setelah proses pewarnaan, profil kekuatan warna terhadap proses pencucian (*washing fastness*) juga perlu diuji. Ahmad *et al.* (2012) dan Liu *et al.* (2013) berhasil mewarnai kain poliamid dan akrilik menggunakan prodigiosin yang diekstrak dari *Serratia marcescens* jx1-1 dengan kekuatan warna yang cukup baik. Penelitian lain oleh Shahitha dan Poornima (2012) yang berhasil mengaplikasikan prodigiosin dari *Serratia marcescens* pada kain katun. Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan oleh beberapa peneliti, performa pewarna alami dalam aplikasinya berbeda-beda bergantung pada jenis serat kain.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, sebanyak 6 isolat mikroorganisme yaitu 2 isolat bakteri B1 dan B2, 3 isolat jamur benang J1, J2, dan J3, serta 1 isolat khamir K1 telah berhasil diisolasi dari limbah kulit kentang. Berdasarkan karakterisasi morfologi, isolat B1 dan B2 merujuk pada genus *Bacillus* dan *Streptococcus* secara berturut-turut. Sedangkan isolat J1 memiliki ciri yang mirip dengan genus *Trichoderma*, selanjutnya isolat J2 dan J3 memiliki karakteristik yang sesuai dengan genus *Aspergillus*. Terakhir, isolat khamir K1 memiliki ciri karakteristik yang merujuk pada genus *Geotrichum*. Dalam penelitian ini, DNA bakteri, kapang, dan khamir berhasil diisolasi dan diamplifikasi menggunakan primer universal yaitu 16S, ITS1, dan ITS4. Hasil amplifikasi pada DNA isolat B1 dan B2 menghasilkan produk sebesar 1500 bp, sedangkan hasil amplifikasi pada DNA isolat J1, J2, J3, dan K1 menghasilkan produk PCR sebesar kurang lebih 500 bp. Sekuensing DNA untuk mengetahui urutan basa produk PCR perlu dilakukan sehingga dapat dipastikan identitas nama spesies dan strain mikroorganisme.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian pendahuluan ini dibiayai oleh Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Negeri Semarang skim penelitian KBK tahun 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad AS, Ahmad WYW, Zakaria ZK, Yosof NZ. 2012. Applications of bacterial pigments as colorant: the Malaysian perspective. New York: Springer Briefs in Molecular Science.
- Alihosseini F, Ju KS, Lango J, Hammock BD, & Sun G. 2008. Antibacterial colorants: characterization of prodiginines and their applications on textile materials. *Biotechnol Progr.* 24(3): 742-747.
- Bintari SH, Fibriana F, Mustikaningtyas D, & Iswari RS. 2014. PCR Approach for Rapid Detection of *Escherichia Coli* in Tempe using A Specific Primer. *J Biol Res.* 19: 54-58.
- Dawson TL. 2009. Biosynthesis and synthesis of natural colours. *Color Technol.* 125(2): 61-73.
- Dufosse L. 2009. Pigments, microbial. In: Schaechter M (ed) Encyclopedia of microbiology, 3rd edn. Academic Press, Oxford.
- Fibriana F. 2014. *Selection, Identification, Optimization and Characterization of Lipase Producing Fungal Strain Isolated from Palm Oil Contaminated Wastes* (Master degree dissertation, Prince of Songkla University Thailand).
- Fibriana F & Hadiyanti LN. 2016. Phylogenetic Relationships of Local Durian Species based on Morphological Characteristics and PCR-RFLP Analysis of the Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) DNA. *Biosaintifika* 8(3): 361-369.
- Gunasekaran S & Poorniammal R. 2008. Optimization of fermentation conditions for red pigment production from *Penicillium* sp. under submerged cultivation. *Afr J Biotechnol.* 7(12):1894-1898
- Joshi VK, Attri D, Bala A, Bhushan S. 2003. Microbial pigments. *Indian J Biotechnol.* 2: 362-369.
- Kim JK, Park SM, Lee SJ. 1995. Novel antimutagenic pigment produced by *Bacillus licheniformis* SSA3. *J Microbiol Biotechnol.* 5(1): 48-50.
- Kramar A, Ilic-Tomic T, Petkovic M, Radulovic N, Kostic M, Jovic D, Nikodinovic-Runic J. 2014. Crude bacterial extracts of two new *Streptomyces* sp. isolats as bio-colorants for textile dyeing. *World J Microbiol Biotechnol.* 30: 2231-2240.
- Liu X, Wang Y, Sun S, Zhu C, Xu W, Park Y, & Zhou H. 2013. Mutant breeding of *Serratia marcescens* strain for enhancing prodigiosin production and application to textiles. *Prep Biochem Biotechnol.* 43(3): 271-284.

- Malik K, Tokkas J, Goyal S. 2012. Microbial pigments: a review. *Int J Microb Res Technol* 1: 361-365.
- Miyaura J, & Tatsumi C. 1961. Studies on the Antibiotics from Actinomycetes. An Antibiotic Pigment from *Streptomyces* F-23b. *Agric Biol.* 12: 129-137.
- Nigam P, Pandey A, Babitha S. 2009. Microbial pigments biotechnology for agro-industrial residues utilisation. Springer, Netherlands.
- Shahitha S & Poornima K. 2012. Enhanced production of prodigiosin production in *Serratia marcescens*. *J Appl Pharm Sci.* 2: 138-140.
- Shirata A, Tsukamoto T, Yasui H, Hata T, Hayasaka S, Kojima A, Kato H. 2000. Isolation of bacteria producing bluish-purple pigment and use for dyeing. *Jap Agric Res Q.* 34: 131-140.
- Sugiharta. 1987. Dasar-dasar pengolahan air limbah. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Venil CK, Zakaria ZA, Ahmad WA. 2013. Bacterial pigments and their applications. *Process Biochem* 48: 1065-1079