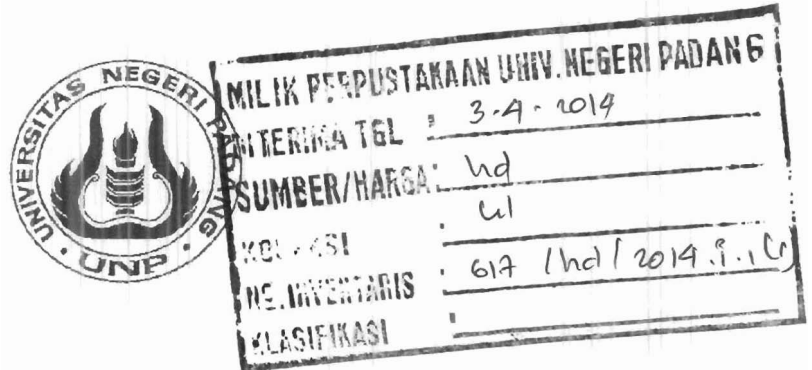


DIPA REGULER-UNP



LAPORAN PENELITIAN



INTENSITAS WARNA YANG DIHASILKAN OLEH *Monascus purpureus* PADA VIRGIN COCONUT OIL DENGAN LAMA FERMENTASI YANG BERBEDA

Oleh

Drs. Mades Fifendy, M.Biomed (Ketua)
Irdawati, S.Si., M.Si (Anggota)

Penelitian ini dibiayai oleh:
Dana DIPA/Rutin Universitas Negeri Padang
Surat Perjanjian Kontrak No: 339 / UN35.2 / PG / 2011
Tanggal 19 Juli 2011

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2011



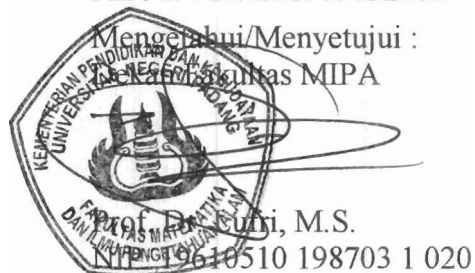
Lembar Identitas dan Pengesahan

1. Judul : Intensitas Warna Yang Dihasilkan Oleh *Monascus purpureus* Pada Virgin Coconut Oil (VCO) Dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda.
2. Bidang Ilmu : Mikrobiologi
3. Ketua Tim Pengusul
 - a. Nama : Drs. Mades Fifendy, M.Biomed
 - b. Jenis Kelamin : Laki-laki
 - c. NIP/NIDN : 19571130 198802 1 001 / 0030115702
 - d. Disiplin Ilmu : Biologi
 - e. Pangkat/Golongan : Pembina / IV.a
 - f. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
 - g. Fakultas/Jurusan : MIPA/Biologi
 - h. Alamat Kantor : Jl. Prof. Dr. Hamka Air Tawar Padang
 - i. Telpon/HP : 0751442566
 - j. Alamat Rumah : Belanti Barat IV No. 12 Kelurahan Lolong Belanti, Padang Utara.
4. Anggota Peneliti : Irdawati, S.Si., M.Si
5. Lokasi Kegiatan : Kota Padang
6. Jumlah belanja yang diusulkan : Rp. 7.500.000 (Tujuh juta lima ratus ribu)

Padang, Januari 2012

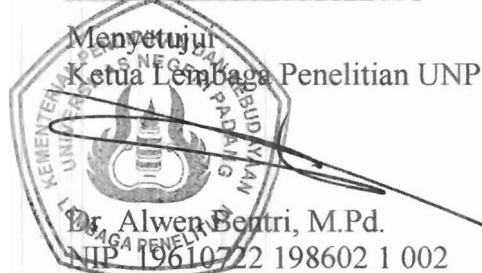
Menyetujui :
Pembimbing Penelitian

Dr. Linda Advinda, M.Kes
NIP. 196109261989032003



Ketua Pelaksana

Drs. Mades Fifendy, M.Biomed.
NIP. 195711301988021001



Intensitas Warna Yang Dihasilkan Oleh *Monascus purpureus* Pada *Virgin Coconut Oil* (VCO) Dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda.

Mades Fifendy, Irdawati

ABSTRAK

Warna merupakan bagian penting bagi penampilan sebuah produk, baik produk makanan, minuman, maupun produk lainnya. Pada dasarnya ada dua macam zat warna yaitu: zat warna alami dan zat warna sintetik. Bahan pewarna sintetik tertentu telah diketahui dapat membahayakan kesehatan karena toksisitasnya. Salah satu bahan pewarna alami yang telah lama digunakan adalah pigmen angkak yang dihasilkan oleh kapang *Monascus purpureus*, pigmen angkak ini memiliki sifat ketahanan warna, serta tidak bersifat toksik seperti pewarna sintetik jadi aman bagi kesehatan. Pigmen ini dapat diproduksi melalui proses fermentasi VCO dengan menambahkan *M. purpureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh intensitas warna yang dihasilkan oleh *M. purpureus* dalam VCO pada lama fermentasi yang berbeda, serta intensitas warna tertinggi yang dihasilkan oleh *M. purpureus* dalam VCO pada lama fermentasi yang berbeda.

Penelitian dilakukan dari bulan November 2010 - April 2011 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA UNP. Jenis penelitian adalah eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan, yaitu 0 hari, 7 hari, 10 hari, 13 hari, 16 hari, 19 hari, dan 21 hari, dengan 3 kali ulangan. Data dianalisis dengan *Analisis of Variance* (ANOVA) dan diuji lanjut dengan uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh yang nyata antara lama fermentasi terhadap intensitas warna yang dihasilkan *M. purpureus*. Intensitas warna tertinggi dihasilkan pada perlakuan G (dengan lama fermentasi 21 hari) dengan rata-rata absorbansi pigmen sebesar 1.616 dan kadar asam lemak tertinggi terdapat pada perlakuan G (dengan lama fermentasi 21 hari) yaitu 1.28%.

PENGANTAR

Kegiatan penelitian mendukung pengembangan ilmu serta terapannya. Dalam hal ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang berusaha mendorong dosen untuk melakukan penelitian sebagai bagian integral dari kegiatan mengajarnya, baik yang secara langsung dibiayai oleh dana Universitas Negeri Padang maupun dana dari sumber lain yang relevan atau bekerja sama dengan instansi terkait.

Sehubungan dengan itu, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang bekerjasama dengan pimpinan Universitas, telah memfasilitasi peneliti untuk melaksanakan penelitian tentang **Intensitas Warna Yang Dihasilkan Oleh *Monascus purpureus* Pada Virgin Coconut Oil (VCO) Dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda**, berdasarkan Surat Perjanjian Kontrak Nomor : No: 339/UN35.2/PG/2011 Tanggal 19 Juli 2011.

Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pembangunan, khususnya yang berkaitan dengan permasalahan penelitian di atas. Dengan selesainya penelitian ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang akan memberikan informasi yang dapat dipakai sebagai bagian upaya penting dalam peningkatan mutu pendidikan pada umumnya. Di samping itu, hasil penelitian ini juga diharapkan memberikan masukan bagi instansi terkait dalam rangka penyusunan kebijakan pembangunan.

Hasil penelitian ini telah ditelaah oleh tim pembahas usul dan laporan penelitian, kemudian untuk tujuan diseminasi, hasil penelitian ini telah diseminarkan ditingkat Universitas. Mudah-mudahan penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pada umumnya dan khususnya peningkatan mutu staf akademik Universitas Negeri Padang.

Pada kesempatan ini, kami ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang membantu terlaksananya penelitian ini, terutama kepada pimpinan lembaga terkait dengan objek penelitian, responden yang menjadi sampel penelitian, dan tim pereviuw Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang. Secara khusus, kami menyampaikan terima kasih kepada Rektor Universitas Negeri Padang yang telah berkenan memberikan bantuan pendanaan bagi penelitian ini. Kami yakin tanpa dedikasi dan kerjasama yang terjalin selama ini, penelitian ini tidak dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan dan semoga kerjasama yang baik ini akan menjadi lebih baik lagi di masa yang akan datang.
Terima kasih.

Padang, Desember 2011
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Negeri Padang



Dr. Atwen Benti, M.Pd.
NIP. 19610722 198602 1 002

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK	iii
PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
I. PENDAHULUAN	1
II. KERANGKA TEORITIS	5
III. METODE PENELITIAN	11
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
V. KESIMPULAN DAN SARAN	22
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Warna merupakan bagian penting bagi penampilan sebuah produk, baik produk makanan, minuman, maupun produk lainnya. Warna dapat memberikan daya tarik pada penglihatan dan dapat membangkitkan minat (selera). Oleh sebab itu banyak orang mempunyai kecenderungan untuk “makan melalui penglihatannya” dan banyak orang lebih mudah dipuaskan melalui penampilan dari pada cita rasa (Sakidja, 1989). Ditambahkan oleh Winarno dalam Ridawati (1993), faktor penampakan yang menjadi pertimbangan manusia dalam menilai makanan adalah warna makanan. Dimana makanan yang memiliki nilai gizi tinggi, rasa enak dan tekstur yang baik, tidak akan dipilih bila memiliki warna yang tidak menarik atau menyimpang dari warna yang seharusnya.

Pada dasarnya ada dua macam zat warna yaitu: zat warna alami dan zat warna sintetik. Warna yang indah, kestabilan tinggi, praktis dan mudah di dapat menyebabkan pewarna sintetik (buatan) lebih disukai. Pada saat ini hampir 90% bahan pewarna yang digunakan dalam makanan di Indonesia adalah bahan pewarna sintetik (Sudarsono, 1990). Penggunaan zat warna sintetis yang tidak seharusnya untuk makanan dan minuman dapat menimbulkan efek toksik. Pewarna sintetis yang dilarang penggunaannya sebagai pewarna makanan dan minuman antara lain Rhodamin B, *Metanil Yellow* dan Auramine (Depkes dalam Fardiaz, 1996).

Berbagai jenis bahan pewarna sintetik tertentu telah diketahui dapat membahayakan kesehatan karena toksisitasnya. Dalam rangka penyediaan bahan makanan yang aman bagi kesehatan maka perlu digalakkan produksi bahan pewarna alami. Bahan pewarna alami ini bisa di peroleh dari tumbuhan dan juga dari mikroorganisme.

Salah satu bahan pewarna alami yang telah lama digunakan adalah pigmen angkak yang dihasilkan oleh kapang *Monascus purpureus*. Zat warna

ini sudah lama digunakan di Asia sebagai bahan pewarna makanan dan minuman. Pigmen yang dihasilkan oleh *M. purpureus* ini memiliki ciri-ciri yang baik sebagai pewarna makanan, karena warna yang dihasilkan menarik serta memiliki sifat ketahanan warna dan kelarutan dalam air saat digabungkan dengan senyawa-senyawa yang sesuai serta tidak bersifat toksik seperti pewarna sintetik jadi aman bagi kesehatan (Wijaya dalam Putri, 2009).

Senyawa kimia yang terdapat di dalam beras merah dan difermentasi oleh *M. purpureus* atau angkak sesungguhnya merupakan produk metabolit sekunder dari kapang *M. purpureus*, yaitu lovastatin dan monacidin. Lovastatin berfungsi menurunkan kadar kolesterol dan monacidin bersifat sebagai senyawa anti mikroba.

Virgin Coconut Oil (VCO) adalah minyak kelapa yang diekstraksi dari daging buah kelapa (*Cocos nucifera*) tua pada suhu rendah (<60⁰C), yang mana sifat fitokimianya setara dengan komposisi kimia sebelum diekstraksi. Ekstraksi VCO dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti: pemanasan, teknik fermentasi dan metoda pancingan. Ekstraksi VCO pada suhu rendah bertujuan untuk mempertahankan struktur kimianya agar tidak terurai terutama Medium Chain Fatty Acid (MCFA) atau asam lemak rantai sedang (Zainal dalam Naldes, 2008).

Prinsip dasar pembuatan minyak kelapa dengan fermentasi adalah penambahan jamur, khamir, ataupun bakteri tertentu ke dalam santan kelapa (Mukhtar dalam Sarun, 1998). Salah satu jenis khamir yang cukup berpotensi dalam pembuatan VCO adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Komponen utama VCO adalah asam lemak laurat (sekitar 5%). VCO merupakan sumber energi yang mudah diserap dan dioksidasi oleh tubuh. Selain itu, VCO juga mampu mengatasi beberapa penyakit degeneratif seperti diabetes melitus, jantung, kegemukan dan kolesterol (Sutarmi, 2005). Disamping itu VCO juga dapat sebagai antivirus, antibakteri, antijamur dan antiprotozoa, hal ini disebabkan kandungan asam laurat. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh para ahli diketahui bahwa VCO sangat kaya dengan kandungan asam laurat (*Lauric*

acid) yang berkisar 50-70%. Asam laurat termasuk asam lemak jenuh rantai sedang.

Dari hasil penelitian pendahuluan didapatkan produk VCO berwarna yang merupakan hasil proses fermentasi dengan penambahan *M. purpureus*. Pada VCO berwarna kita dapatkan dua keuntungan yaitu senyawa kimia yang bernilai sebagai obat ada pada VCO dan senyawa kimia yang bernilai sebagai obat dihasilkan oleh *M. purpureus*. Namun dalam pembuatan VCO berwarna belum ada di informasi lama fermentasi yang optimal dalam menghasilkan pigmen oleh *M. purpureus*. Berdasarkan hal tersebut peneliti telah melakukan penelitian dengan judul **"Intensitas Warna Yang Dihasilkan Oleh *Monascus purpureus* Pada Fermentasi *Virgin Coconut Oil* (VCO)"**.

B. Batasan Masalah

Pada penelitian ini masalahnya dibatasi pada pigmen yang akan diukur dan VCO yang digunakan. Dimana pigmen yang akan diukur adalah intensitas pigmen dengan melihat absorbansinya dan VCO yang digunakan adalah VCO yang dibuat melalui proses fermentasi.

C. Rumusan Masalah

Penggunaan bahan sintetik dapat membahayakan kesehatan kita. Untuk mengatasi hal tersebut, maka digunakan bahan pewarna alami yang dihasilkan oleh mikroorganisme diantaranya *M. purpureus* dengan memanfaatkan minyak kelapa murni. Kandungan yang dimiliki oleh minyak kelapa murni dapat digunakan sebagai substrat fermentasi dari kapang *M. purpureus*. Dengan demikian masalah yang akan diteliti adalah:

1. Bagaimana pengaruh lama fermentasi terhadap warna yang dihasilkan oleh *M. purpureus* pada fermentasi VCO?
2. Berapa intensitas warna tertinggi yang dihasilkan oleh *M. purpureus* pada fermentasi VCO?

D. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah:

1. Lama fermentasi berpengaruh terhadap intensitas warna yang dihasilkan oleh *M. purpureus* pada fermentasi VCO.
2. Terdapat intensitas warna tertinggi yang diproduksi oleh *M. purpureus* untuk memproduksi warna pada fermentasi VCO.

E. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap intensitas warna yang dihasilkan oleh *M. purpureus* dalam fermentasi VCO.
2. Untuk mengetahui intensitas warna tertinggi yang dihasilkan oleh *M. purpureus* dalam VCO pada lama fermentasi yang berbeda.

F. Kontribusi Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang mikrobiologi pangan, sebagai pewarna makanan atau minuman serta bermanfaat dalam pengembangan produksi minyak kelapa secara fermentasi.

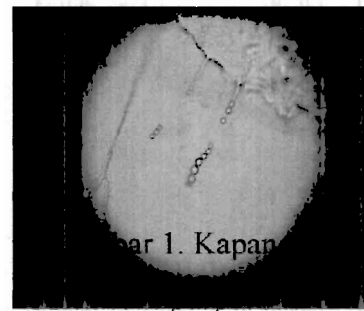
BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Kapang *Monascus purpureus* Sebagai Penghasil Pigmen Alami

Monascus purpureus adalah kapang sempurna karena dapat bereproduksi secara seksual dengan askospora maupun seksual yang ditandai dengan pembentukan konidiospora yang muncul dari miselium yang terendam dalam medium. *M. purpureus* adalah jenis jamur yang menghasilkan warna jika di tumbuhkan pada substrat yang mengandung pati (Meyer dalam Erdogul and Azirak, 2004).

Alexopoulus dan Mims (1997), mengklasifikasikan kapang sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
Divisio : Amastigomycotina
Subdivisio : Ascomycota
Klas : Ascomycetes
Subklas : Plectomycetidae
Ordo : Eurotiales
Famili : Monascaceae
Genus : *Monascus*
Spesies : *Monascus purpureus*



(Sumber : Lab. Mikrobiologi UNP)

M. purpureus pertama kali diisolasi oleh Went (1895) dari beras angkak yang berasal dari Jawa, Indonesia. Dari beras angkak ini telah diisolasi berbagai metabolit sekunder, antara lain zat warna, zat anti hiper kolesterolemia, asam-asam organik dan enzim (Pastrana *et al.*, 1995 ; K. Lakrod *et al.*, 2000 dalam Arva, 2011).

M. purpureus dapat ditumbuhkan pada *Patato Dextrosa Agar* (PDA), *Sabouraud's Agar*, *Solution agar* dalam waktu 10 hari pada suhu 29°C-32°C (Pattanagul, *et al.*, 2007). *M. purpureus* dapat dengan mudah dibedakan dari askosporanya yang terlihat berbentuk seperti bola dengan diameter 5 mikron. Miselianya berwarna putih pada awal perkembangannya. Bagaimanapun,

miseliana dengan cepat berubah menjadi merah muda dan berikutnya menjadi warna oranye-kuning. Produksi pigmen oranye-kuning menandai meningkatnya kadar asam pada médium (Pattanagul, *et al.*, 2007).

Pigmen *Monascus* dibedakan menjadi dua, yaitu pigmen intraseluler (tidak larut air), dan pigmen ekstraseluler (larut air) (Timotius, 2004). Jamur *Monascus* menghasilkan enam macam pigmen yang dapat dikategorikan dalam 3 kelompok, yaitu pigmen kuning terdiri dari *monascin* dan *ankflavin*, pigmen oranye terdiri dari *monascorubrin* dan *rubropunctatin*, dan pigmen merah yang terdiri dari *monascorubramine* dan *rubropunctamine* (Pattanagul, *et al.*, 2007). Konsentrasi pigmen dapat diestimasi dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 370, 420, dan 500 nm untuk masing-masing pigmen kuning, oranye dan merah (Timotius, 2004).

Menurut Kasim (2006), intensitas pigmen merah yang dihasilkan kapang *Monascus* sp tergantung pada nutrisi dan kondisi lingkungannya. Dari hasil penelitian Fardiaz dalam Kasim (2005), menyatakan bahwa pigmen yang dihasilkan oleh *M. purpureus* tidak bersifat toksik serta tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh. Berdasar penelitian, angkak mampu menurunkan kadar kolesterol darah. Kolesterol dikenal sebagai penyebab utama terjadinya aterosklerosis. Akibatnya saluran pembuluh darah koroner, menjadi sempit dan menghalangi aliran darah di dalamnya. Keadaan ini dapat meningkatkan resiko penyakit jantung koroner (PJK) dan stroke (Priantono dalam Dwinaningsih, 2010).

Kapang *M. purpureus* merupakan bahan-bahan alami yang terbukti efektif untuk mereduksi kadar kolesterol dalam darah. Kapang ini menghasilkan senyawa monakolin yang efeknya sama dengan lovastatin yaitu menghambat HMG-CoA reduktase disamping mengandung asam lemak tak jenuh. Produk *Monascus* ini telah lama digunakan sebagai makanan sehat dan makanan tambahan untuk penderita hiperkolesterolemia yang penggunaannya telah disetujui oleh Food Drug Administration (FDA) sejak 1998 (Anonim, 2008).

Rhodamin B merupakan pewarna yang dipakai untuk industri cat, tekstil, dan kertas. Zat warna ini dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan dan merupakan zat karsinogenik (dapat menyebabkan kanker) serta Rhodamin B dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada hati. Rhodamin B merupakan zat warna sintesis berbentuk serbuk kristal, tidak berbau, berwarna merah keunguan, dalam bentuk larutan berwarna merah terang berpendar (berfluorescensi).

Rhodamin B seringkali disalah gunakan untuk pewarna pangan dan kosmetik, misalnya: sirup, lipstik, dll. Paparan Rhodamin B dalam waktu yang lama (kronis) dapat menyebabkan gangguan fungsi hati/kanker hati. Rhodamin B biasanya terdapat pada lipstik yang berwarna merah mencolok, lipstik yang *water proof* (tahan air), *blush on* (pemerah pipi), dll (Anonim, 2009).

B. *Virgin Coconut Oil*

Virgin Coconut Oil (VCO) adalah minyak kelapa yang diekstraksi dari daging buah kelapa (*Cocos nucifera*) tua pada suhu rendah ($<60^{\circ}\text{C}$), yang mana sifat fitokimianya setara dengan komposisi kimia sebelum diekstraksi. Ekstraksi VCO dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti: pemanasan, teknik fermentasi dan metoda pancingan. Ekstraksi VCO pada suhu rendah bertujuan untuk mempertahankan struktur kimianya agar tidak terurai terutama Medium Chain Fatty Acid (MCFA) atau asam lemak rantai sedang (Zainal dalam Naldes, 2008).

Minyak kelapa murni atau VCO adalah minyak kelapa yang diperoleh dari daging kelapa segar melalui proses alamiah, tanpa pemurnian, pemutihan dan penghilangan bau. Komponen utama VCO adalah asam lemak laurat (sekitar 5%). Berbeda dengan minyak kelapa tradisional, proses pembuatan VCO tidak menggunakan pemanasan suhu tinggi sehingga tidak terbentuk radikal bebas asam lemak tidak jenuhnya dan kandungan antioksidan alaminya tidak hilang. Hal ini menyebabkan VCO tidak mudah tengik karena

teroksidasi. Disamping itu, kandungan asam lemak rantai sedang yang dapat sedikit menguap pada suhu tinggi juga tidak ada yang hilang (Suardi, 2007).

VCO merupakan sumber energi yang mudah diserap dan dioksidasi oleh tubuh. Selain itu, VCO juga mampu mengatasi beberapa penyakit degeneratif seperti diabetes melitus, jantung, kegemukan dan kolesterol (Sutarmi, 2005). Disamping itu VCO juga dapat sebagai antivirus, antibakteri, antijamur dan antiprotozoa, hal ini disebabkan kandungan asam laurat.

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh para ahli diketahui bahwa VCO sangat kaya dengan kandungan asam laurat (*Lauric acid*) yang berkisar 50-70%. Asam laurat termasuk asam lemak jenuh rantai sedang. Disamping itu pada VCO juga terkandung asam-asam lemak lainnya.

Asam laurat pertama kali ditemukan oleh John Karbara, peneliti dari departemen kimia dan farmakologi Universitas Michigan Amerika Serikat pada tahun 1960an. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa asam laurat mampu membunuh jenis mikroba yang dinding selnya terdiri dari lipid. Sifat asam laurat dapat melarutkan membran sehingga akan mengganggu kekebalan mikroba. Hal ini akan membuat mikroba menjadi tidak aktif (Nur dalam Naldes, 2008).

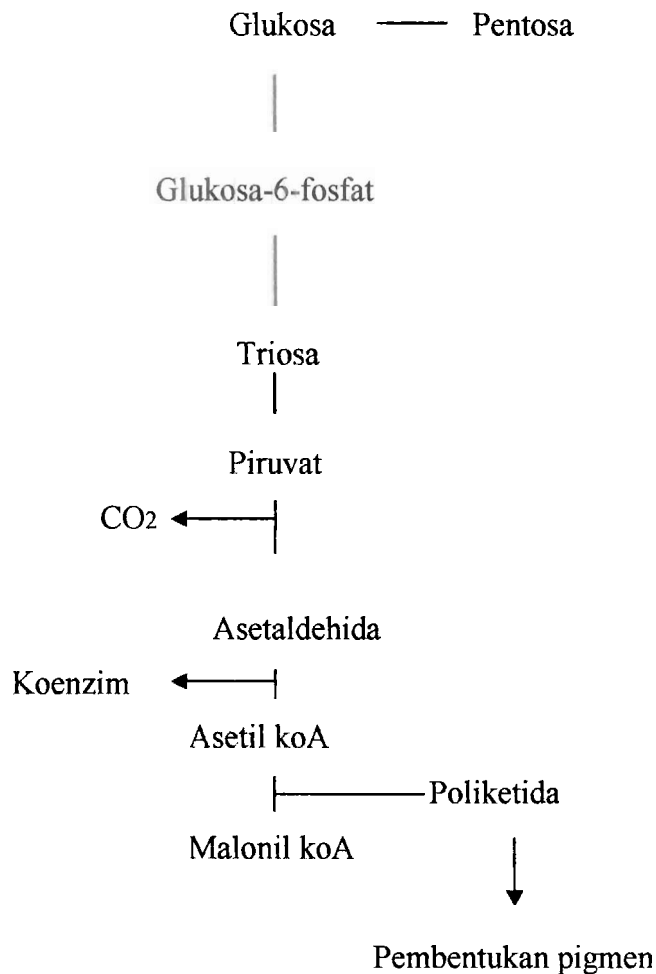
C. Fermentasi VCO dengan *Monascus purpureus*

Fermentasi adalah reaksi oksidasi reduksi dalam sistem biologi guna menghasilkan energi, sebagai akseptor elektron adalah senyawa organik. Jika oksigen dari luar berperan sebagai akseptor maka yang terjadi adalah respirasi bukan fermentasi.

Pada *Monascus* pemanfaatan karbohidrat dimulai dengan proses glikolisis. Pigmen merah yang dihasilkan oleh *M. purpureus* merupakan zat warna yang berasal dari metabolit sekundernya. Pigmen ini dihasilkan oleh kapang *M. purpureus* melalui lintasan asam asetat dan malonat yang berasal dari hasil glikolisis asam piruvat. Bila nitrogen dalam substrat habis, maka hasil glikolisis dialihkan untuk membentuk metabolit sekunder. Asam piruvat mengalami dekarboksilasi oksidatif dengan bantuan enzim piruvat

dehidrogenase dan koenzim A, membentuk unit-unit malonil Ko-A, asetil Ko-A dan malonil Ko-A lalu membentuk rantai poliketida yang dapat digunakan untuk membentuk pigmen (Fardiaz et al., dalam Timotius, 1998).

Proses pembentukan metabolit sekunder pigmen dapat dilihat pada diagram dibawah ini, (Gambar 2) (Turner, 1971).



Gambar 2. Pembentukan metabolit sekunder pigmen

Menurut Volk dan Wheeler (1990), fermentasi di definisikan sebagai perombakan anaerob karbohidrat yang menghasilkan pembentukan produk fermentasi yang stabil. Fermentasi merupakan kegiatan mikroba pada bahan pangan sehingga dihasilkan produk yang dikehendaki. Mikroba yang umum terlibat dalam fermentasi adalah *Acetobacter xylinum* pada pembuatan VCO, *Acetobacter aceti* pada pembuatan asam asetat. Contoh khamir dalam

fermentasi adalah *S. cerevisiae* dalam pembuatan alkohol sedang contoh kapang adalah *Rhizopus* sp pada pembuatan tempe, *M. purpureus* dalam pembuatan angkak. Fermentasi dapat dilakukan menggunakan kultur murni ataupun alami serta dengan kultur tunggal ataupun kultur campuran. Fermentasi menggunakan kultur alami umumnya dilakukan pada proses fermentasi tradisional yang ada di lingkungan, salah satu contohnya adalah tempe.

Salah satu contoh fermentasi adalah proses fermentasi pada VCO dengan menambahkan *M. purpureus* sehingga didapatkan produk VCO berwarna oranye, pada VCO yang berwarna oranye didapat keuntungan selain senyawa kimia yang bernilai sebagai obat ada pada VCO juga didapat senyawa kimia yang bernilai sebagai obat pada *M. purpureus*. Produk VCO berwarna oranye dalam mengkonsumsinya tidak perlu dilakukan pengocokan, karena warna oranye *M. purpureus* sudah menyatu dengan minyak VCO. Sedangkan pada produk alami lainnya seperti VCO buah merah dalam mengkonsumsinya terlebih dahulu dikocok karena warna merah yang dihasilkan buah merah tidak menyatu dengan VCO.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen.

B. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan dari bulan November 2010 sampai April 2011 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNP.

C. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah panci, tabung reaksi, gelas ukur, timbangan, Erlenmeyer 250 ml, Erlenmeyer 500 ml, kompor, oven listrik, pipet tetes, vorteks, beaker glass, corong pemisah, saringan, kertas koran, jarum inokulasi, spatula, lampu spiritus, *blender*, LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), *autoclave*, *shaker*, *incubator*, UV-VIS (Spectrophotometer U-2810).

Bahan yang digunakan adalah kelapa tua, *S. cerevisiae*, *M. purpureus*, ampas tahu, jagung, tepung beras, PDA (Patato Dextrosa Agar), Nutrien Agar (NA), NH_4NO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan KH_2PO_4 , KOH, *Phenolphthalein*, NaOH, akuades, sukrosa, alkohol, spiritus, kertas saring, kertas koran, kapas, aluminium foil, kain kasa.

D. Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan sebagai berikut:

A = 0 hari (Kontrol)

B = 7 hari

C = 10 hari

D = 13 hari

E = 16 hari

F = 19 hari

G = 21 hari

E. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Penelitian

a. Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO)

1. Pembuatan Medium Untuk *Saccharomyces cerevisiae*

Nutrien Agar ditimbang 10 g, lalu dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan akuades sampai mencapai volume 100 ml. Dipanaskan sampai mendidih, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil, sterilisasi di dalam autoklav pada temperatur 121⁰C.

2. Pembuatan Medium PDA (*Patato Dextrosa Agar*) Instan

PDA instan ditimbang sebanyak 19,5 g, lalu dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan akuades sampai mencapai volume 500 ml. Dipanaskan sampai mendidih, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil, sterilisasi di dalam autoklav pada temperatur 121⁰C.

3. Pemisahan Santan Kelapa

Daging buah kelapa yang sudah diparut diperas dengan menggunakan air panas (80-90⁰C) dengan perbandingan berat : volume = 1:1. Selanjutnya disaring dengan menggunakan kain kasa untuk memisahkan filtrat dari ampas kelapa. Cara diatas dilakukan 2 kali, kemudian filtrat digabung dan didiamkan selama 2 jam sampai terjadi pemisahan antara skim yaitu santan yang encer (pada lapisan bawah) dan krim (santan yang kental) pada lapisan atas. Skim digunakan untuk substrat starter dan krim dibutuhkan sebagai bahan fermentasi (Sarpenni, 2007).

4. Pembuatan Starter *S. cerevisiae*

Sebanyak 10 ml skim kelapa dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml. Selanjutnya, secara aseptis masukkan 1 ose biakan *S. cerevisiae* erlenmeyer kembali ditutup dan inkubasi selama 2 jam.

5. Fermentasi Santan Kelapa Dalam Memproduksi Minyak

Sebanyak 10 ml starter *S. cerevisiae* dicampurkan ke dalam krim kelapa sampai berjumlah 100 ml. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah fermentasi akan terbentuk tiga lapisan yaitu air di lapisan bawah, protein (blondo) di bagian tengah dan minyak dibagian atas. Kemudian disentrifus lagi sehingga dihasilkan minyak yang benar-benar murni.

b. Pembuatan Kultur *Monascus purpureus*

Pembuatan kultur murni jamur *M. Purpureus* diperbanyak dengan cara menginokulasikan satu ose kultur ke media PDA miring dan diinkubasi pada suhu kamar selama 8 hari. Kultur siap digunakan sebagai kultur kerja.

c. Pembuatan Starter *M. purpureus*

Media yang digunakan yaitu 100 ml ekstrak jagung ditambah 4% tepung beras. Sebagai sumber nitrogen dan mineralnya ditambah NH_4NO_3 0,15%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,10% dan KH_2PO_4 0,25%, (Jenie dan Fachda, 1991 dalam Jenie, 1994). Setelah itu pH media diatur 6 dan sterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit. Setelah dingin, media diinokulasi dengan spora kapang dari agar miring yang dilepas dengan menggunakan air steril sebanyak 10 ml (Ridawati, 1993), kemudian diinkubasi selama 7 hari (Jenie, 1994).

d. Pembuatan Tepung Jagung dan Tepung Ampas Tahu

Biji jagung dan ampas tahu dikeringkan didalam oven selama 2 hari dengan suhu 60°C , kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender (Kusumawati, 2005).

2. Pelaksanaan Penelitian

a) Pembuatan Media (Tepung Jagung : Tepung Ampas Tahu)

Tepung jagung sebanyak 5 g dan tepung ampas tahu 10 g ditambahkan akuades menjadi 100 ml kemudian dididihkan pada suhu 100°C dan disaring. Masukkan media ke dalam botol *jam*.

b) Fermentasi Monascus-VCO

Media fermentasi dinetralkan dengan menambahkan 1M NaOH. Sebanyak 20 ml VCO dimasukkan ke dalam tiap-tiap media fermentasi (100 ml) dalam botol *jam*. Setelah disterilisasi dalam autoklav pada suhu 121°C selama 20 menit, kemudian didinginkan. Setiap botol diinokulasi dengan starter sebanyak 10% (v/v). Fermentasi berlangsung selama 21 hari dan dilakukan dengan *shaker* kecepatan 100 rpm pada suhu kamar (Jenie, 1994; Sheu et al., 2000 dalam Kusumawati, 2005).

3. Pengamatan

Ada 2 Pengamatan Dilakukan:

1. Intensitas warna terhadap absorbansi pigmen yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. Kultur yang telah ditumbuhkan dipanen dengan cara disaring, lalu supernatan yang diperoleh di sentrifuse selama 15 menit. Untuk mengetahui intensitas pigmen oranye abrosbansi supernatan diamati pada panjang gelombang 420 nm.
2. Kadar Asam Lemak Bebas (AOAC dalam Danti, 2007)
Kadar asam lemak bebas merupakan asam lemak bebas yang dihitung berdasarkan jenis asam lemak terbesar yang dikandung minyak. Minyak kelapa mengandung asam lemak jenuh yang

paling banyak terutama asam laurat dibandingkan jenis asam minyak lain, maka pada penentuan asam lemak bebasnya dapat mewakili asam laurat (Anas, 1985 dalam Danti, 2007).

Adapun cara mengukur kadar asam lemak bebas dilakukan dengan menimbang minyak yang akan diuji 7,05 g di dalam Erlenmeyer 200 ml. Kemudian ditambahkan 50 ml alkohol 95%, dipanaskan selama 10 menit dalam penangas air sambil diaduk. Setelah dingin ditetesi dengan larutan *Phenolphthalein* sebanyak 3 tetes, dan dititrasi dengan KOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah jambu yang permanen. Setelah itu dihitung jumlah milliliter KOH 0,1 N yang digunakan untuk menetralkan asam lemak bebas dalam 1 g minyak.

$$\text{Kadar Asam (g/g)} = \frac{M}{G}$$

Keterangan:

M = 205 (bobot molekul asam lemak minyak kelapa)

A = Jumlah ml KOH untuk titrasi

N = normalitas larutan KOH

G = berat sampel (g)

F. Analisis Data

Data dianalisis dengan ANOVA. Jika hasilnya menunjukkan perbedaan yang nyata, dilakukan uji lanjut. Hasil yang berbeda nyata dilakukan uji lanjut Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) (Hanafiah, 2005).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Intensitas pigmen

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil mengenai intensitas warna yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* pada lama fermentasi yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Rata-rata intensitas pigmen yang didapat setelah dilakukan uji lanjut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata intensitas warna yang dihasilkan *M. purpureus* pada VCO

Perlakuan	Rata-rata Intensitas Warna
A	0.130 a
C	0.407 a
B	0.434 a
D	0.512 a b
E	0.832 b c
F	1.148 c
G	1.616 d

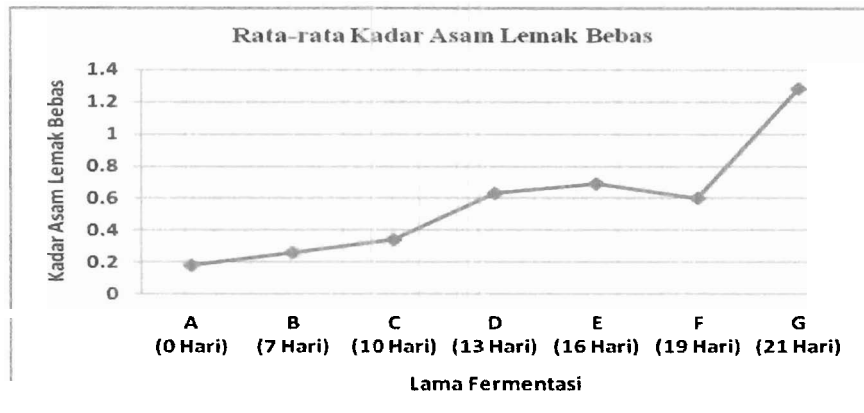
Keterangan : angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Beda Jarak Nyata Duncan (B.JND).

Berdasarkan statistik uji lanjut yang dilakukan dengan uji lanjut BJND dapat kita lihat pada perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, B dan D tetapi berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan E, tetapi berbeda nyata dengan perlakuan F dan G. Perlakuan F berbeda nyata dengan perlakuan G. Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa intensitas warna pada perlakuan G (dengan lama fermentasi 21 hari) merupakan hasil yang tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Rata-rata intensitas warna yang dihasilkan *M. purpureus* pada VCO juga dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan F dan D, tapi berbeda nyata dengan perlakuan F dan G, sedangkan perlakuan F tidak berbeda nyata dengan D dan E tapi berbeda nyata dengan G. Rata-rata kadar asam lemak bebas tertinggi pada perlakuan G (1,28%) dan terendah pada perlakuan A (0,18%).

Rata-rata kadar asam lemak bebas juga dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 4. Grafik rata-rata kadar asam lemak bebas dengan lama fermentasi berbeda

a. PEMBAHASAN

1. Intensitas Warna

Intensitas warna diukur berdasarkan absorbansi supernatan yang dihasilkan. Produksi warna *M. purpureus* meningkat sejalan dengan bertambahnya lama fermentasi dan mencapai puncaknya pada perlakuan G dengan lama fermentasi 21 hari, hal ini dapat dilihat pada tabel 1.

Berdasarkan uji lanjut diketahui bahwa intensitas warna terendah pada perlakuan A (lama fermentasi 0 hari) memiliki intensitas warna terendah yaitu 0.130 dan pada perlakuan G (lama fermentasi 21 hari) memiliki intensitas warna terbesar yaitu 1.616. Hal ini diduga karena pada campuran 0 hari, starter yang diberikan belum melakukan proses metabolisme sehingga pertumbuhan sel belum terjadi dan pigmennya belum diproduksi, sebagaimana yang diungkapkan oleh Pelczar (1998), bahwa pada tahap anjang-ancang (fase lag) belum terjadi pembelahan sel

karena beberapa enzim belum disintesis. Frazier dan Westhoff (1978) menambahkan, bahwa suatu fermentasi sangat tergantung pada jumlah starter, lama fermentasi, substrat, enzim, pH dan kandungan gula yang digunakan. Penambahan jumlah starter yang tepat akan memicu pertumbuhan sel yang lebih banyak sehingga akhirnya akan menghasilkan produksi pigmen yang lebih maksimum. Penambahan starter ini bertujuan untuk memacu terjadinya proses fermentasi dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang lain selain *M. purpureus* dalam media tersebut.

Lama fermentasi 7, 10 dan 13 hari sudah terlihat kenaikan intensitas warna hal ini disebabkan *M. purpureus* mulai memasuki awal fase stasioner dan sudah mulai membentuk pigmen, tapi pigmennya sebagian besar intraseluler sehingga intensitasnya masih rendah. Sebagaimana menurut Fardiaz (1988), bahwa pigmen merupakan salah satu metabolit sekunder yang diproduksi pada fase stasioner pertumbuhan mikroba, dimana metabolit sekunder merupakan senyawa yang diduga tidak diperlukan untuk pertumbuhan sel. Contoh metabolit sekunder yang lain antibiotik, toksin, pigmen, vitamin dan terpeda (steroid). Menurut Pelczar (1998), pengalihan dari tahap eksponensial ke tahap stasioner terjadi berangsur-angsur, selain karena keterbatasan substrat, juga kepadatan populasi yang tinggi, tekanan parsial oksigen yang rendah dan timbunan produk metabolisme yang toksik, dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan dan mengintroduksi tahap stasioner. Sedangkan pada hari 16 dan 19 intensitas warna semakin naik karena produksi pigmen ekstraseluler semakin meningkat, diungkapkan lagi Yuan dalam Ridawati (1993), mengemukakan pigmen *M. purpureus* ada dua jenis, yaitu: ekstraseluler dan interseluler, pigmen merah ekstraseluler adalah pigmen yang diekstruksikan ke media fermentasi sedangkan pigmen intraseluler merupakan pigmen yang masih terdapat dibagian dalam hifa.

Intensitas warna paling tinggi diperoleh pada lama fermentasi 21 hari diduga sudah memasuki tahap akhir stasioner pada kurva pertumbuhan. Menurut Fardiaz (1988), metabolit sekunder adalah hasil

metabolisme yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan sel dan produksinya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Kecenderungan intensitas warna yang semakin tinggi disebabkan karena kondisi yang stabil, hal ini dibuktikan pada penelitian pendahuluan VCO berwarna merah yang sudah tersimpan selama dua tahun masih stabil warnanya. Hal ini disebabkan karena sebagian sel mikroba sudah ada yang lisis, karena akan mengalami fase kematian sehingga pigmen ekstraseluler semakin banyak.

Sebagaimana dikemukakan Pelczar (1998), kurva pertumbuhan berbentuk sigmoid dan dapat dibedakan dalam beberapa tahap pertumbuhan yang muncul secara teratur, yaitu: (1) Tahap Ajang-ajangan (fase lag), interval waktu antara saat penanaman dan saat tercapainya kecepatan pembelahan maksimum, maka pada fase ini belum ada terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. (2) Tahap Eksponensial atau logaritmik dicirikan dengan terjadinya pembelahan sel dengan cepat dan konstan. Kecepatan pembelahan diri relatif konstan, maka tahap log paling cocok untuk menetapkan kecepatan pembelahan diri (dan kecepatan pertumbuhan). (3) Tahap Stasioner, dimulai apabila sel-sel tidak tumbuh lagi. Kecepatan pertumbuhan sudah terjadi saat kadar substrat berkurang sebelum substrat habis terpakai. Dengan demikian pengalihan dari tahap eksponensial ke tahap stasioner terjadi berangsur-angsur. Pada tahap stasioner ini bahan-bahan simpanan masih dapat digunakan. (4) Tahap Kematian, setelah beberapa saat pada tahap stasioner, angka kematian bertambah sehingga mencapai suatu tingkat yang stabil. Dimana beberapa sel tumbuh dengan zat makanan yang dilepaskan oleh sel-sel yang mati dan mengalami lisis.

2. Kadar asam lemak bebas

Dari pengamatan terhadap kadar asam lemak bebas didapatkan hasil yang berbeda nyata dari ketujuh perlakuan. Pada tabel terlihat bahwa perlakuan G (1.28%) memiliki kadar asam lemak bebas tertinggi, sedangkan kadar asam lemak bebas terendah pada perlakuan A (0.18%).

Danti (2007), mendapatkan asam lemak bebas terbanyak pada waktu inkubasi 20 jam dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yaitu sebanyak 0.33%. Rahmi (2008), mendapatkan asam lemak bebas terbanyak 0.48%. Berdasarkan hal di atas bisa dilihat bahwa kadar asam lemak bebas yang terdapat pada VCO berwarna lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang tidak menggunakan *M. purpureus*.

Perlakuan lama fermentasi memberikan pengaruh terhadap kadar asam lemak. Dari gambar 4, dapat dilihat bahwa semakin lama fermentasi maka semakin meningkat kadar asam lemak. Hal ini terjadi karena selama fermentasi terjadi proses metabolisme dan perombakan senyawa makromolekul menjadi senyawa yang lebih sederhana. Menurut Wiryadi dalam Dwinaningsih (2010), waktu fermentasi merupakan salah satu faktor terpenting penyebab meningkatnya kadar asam lemak sehingga dengan meningkatnya waktu fermentasi maka kadar asam lemak akan meningkat pula.

Asam lemak yang jumlahnya terbesar dalam *Virgin Coconut Oil* adalah asam laurat jumlah bisa mencapai 40-50%. Manfaat dari asam laurat yaitu membunuh berbagai jenis mikroba yang membran selnya berasal dari asam lemak (*lipid coated microorganism*). Sifat asam laurat dapat melarutkan membran virus berupa lipid sehingga akan mengganggu kekebalan virus, sehingga virus inaktif (Hariyani, 2006).

Bilangan asam lemak bebas dapat berpengaruh terhadap mutu minyak. Tingginya asam laurat yang dikandungnya menyebabkan minyak kelapa tahan terhadap ketengikan akibat oksidasi (Nur, 2005). Menurut Ketaren dalam Danti (2007), asam lemak bebas terbentuk karena proses oksidasi, hidrolisis, enzim dan mikroba selama pengolahan dan penyimpanan minyak.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Lama fermentasi berpengaruh terhadap intensitas warna yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* dalam VCO dengan intensitas warna tertinggi yaitu 1,616 pada lama fermentasi 21 hari.
2. Kadar asam lemak bebas tertinggi didapat pada lama fermentasi 21 hari yaitu 1,28%.

B. Saran

Disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan terhadap pengukuran kadar pigmen yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* dalam VCO dengan melakukan optimasi terhadap faktor fisik yang mempengaruhi seperti pH dan suhu.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos and W.C.Mims. 1997. *Introductory Mycologi*. Third Edition. John Wiley and Sons: New York.
- Anonim. 2008. *Angkak Penurun Kolesterol, Penurun LDL dan trigliserida*. <http://en.wordpress.com/tag/penurun-ldl-dan-trigliserida>. Diakses Tanggal 14 Desember 2010.
- Arva, S. 2011. Intensitas Warna Yang Dihasilkan *Monascus purpureus* Pada Nata De Coco Dengan Beberapa Komposisi Media Tumbuh. *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Danti, Y. R. 2007. Jumlah dan Mutu Minyak Kelapa Hasil Fermentasi Oleh Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* Pada Waktu Inkubasi Berbeda. *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Dwinaningsih, E.A. 2010. Karakteristik Kimia dan Sensori Tempe Dengan Variasi Bahan Baku Kedelai/Beras dan Penambahan Angkak Serta Variasi Lama Fermentasi. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. IPB dengan Lembaga Sumber Daya Informasi: Bogor.
- Fraizer, C.W dan Westhoff. 1978. *Food Microbiology*. Tata Mc. GrawHill. Publishing Company Limited: New Delhi.
- Hanafiah, A. K. 2005. *Rancangan Percobaan*. PT. Raja Grafindo Persada: Jakarta.
- Hariyani, S. 2006. Pengaruh Waktu Pengadukan Terhadap Kualitas *Virgin Coconut Oil* (VCO). *Tugas Akhir*. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Jenie, B.S.L., Ridawati., dan Winiati, P.R. 1994. Produksi Angkak Oleh *Monascus purpureus* Dalam Medium Limbah Cair Tapioka, Ampas Tapioka dan Ampas Tahu. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 5 (3): 60-64.
- Kasim, E., Astuti, S., dan Nurhidayat, N. 2005. Karakteristik Pigmen dan Kadar Lovastatin Beberapa Isolat *Monascus purpureus*. *Biodiversitas* (Vol. 6, No. 4).
- Kasim, E., Suharna, N., dan Nurhidayat, N. 2006. Kandungan Pigmen dan Lovastatin pada Angkak Baras merah Kultivar Buah Butong dan BP 1804 IF 9 yang Difermentasi dengan *Monascus purpureus*. *Biodiversitas* (Vol.7, No. 1).
- Kusumawati, T.H., Suranto dan Setyaningsih, R. 2005. Kajian Pembentukan Warna pada *Monascus-Nata Kompleks* dengan Menggunakan Kombinasi Ekstrak Beras, Ampas Tahu dan Dedak Padi sebagai Media. *Biodiversitas*. 6 (3) : 160-163.

- Naldes, S. 2008. Penentuan Aktivitas Anti Bakteri Virgin Coconut Oil (VCO) Hasil Ekstraksi dari Kelapa Hijau (*Cocos nucifera* L.). *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Nur, A. 2005. *Virgin Coconut Oil: Minyak Penakluk Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka: Jakarta.
- Pattanagul, P. Et al., 2007. Review of Angkak Production (*Monascus purpureus*). *Chiang Mai J.* 34 (3) : 319-328.
- Pelczar, M.J dan E.S.C Chan. 1998. *Dasar-dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: UI Press.
- Putri, I. 2009. Pengaruh Jumlah Starter dan Waktu Fermentasi Terhadap Intensitas Pigmen Yang Dihasilkan Oleh *Monascus purpureus* Pada Limbah Ubi Kayu (*Manihot utilisima*). *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Rahmi, A. 2008. Kualitas dan Kuantitas Minyak Kelapa Hasil Fermentasi *Saccharomyces cereviceae* Pada Beberapa Varietas Kelapa. *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Ridawati. 1993. Produksi Pigmen Oleh *Monascus purpureus* Pada Media Campuran Limbah Cair Tapioka, Ampas Tahu dan Ampas Tahu. *Skripsi*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Sakidja. 1989. *Kimia Pangan*. Depdikbud: Jakarta.
- Sarpenni, M. 2007. Kemampuan Minyak Kelapa Murni Dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur Patogen. *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Sarun, K. 1998. Pengaruh Penggunaan Asam Asetat (CH_3COOH)/Asam Cuka Terhadap Mutu Minyak Kelapa. *Skripsi*. Padang: Universitas Negeri Padang.
- Sudarsono, A. 1990. Mempelajari Produksi Zat Warna Alami Angkak Engan Substrat Fermentasi Ampas Tapioka (Onggok) oleh *Monascus purpureus* Went. *Skripsi*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Suardi, M., Nasrul, R., Rahman, A. 2007. *Pengaruh Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Liberasi Salep Kalium Iodida*. Fakultas Farmasi UNAND: Padang.
- Sutarmi. 2005. *Takluk Penyakit dengan VCO*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Timotius, K.H. 2004. Produksi Pigmen Angkak oleh *Monascus*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 15 (1) : 79-86.
- Volk & Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar Jilid 2*. Jakarta : Erlangga.

Lampiran 1. Data Perhitungan Hasil Penelitian

1. Data Intensitas Warna yang dihasilkan pada VCO

Tabel 3. Data Intensitas Warna yang dihasilkan pada VCO

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	0.110	0.136	0.144	0.390	0.130
B	0.193	0.137	0.973	1.303	0.434
C	0.404	0.394	0.423	1.221	0.407
D	0.522	0.499	0.515	1.536	0.512
E	0.738	0.987	0.771	2.496	0.832
F	1.192	1.079	1.174	3.445	1.148
G	1.704	1.618	1.526	4.848	1.616
Jumlah (Σ)				15.239	5.079

Keterangan :

A : 0 Hari

B : 7 Hari

C : 10 Hari

D : 13 Hari

E : 16 Hari

F : 19 Hari

G : 21 Hari

Analisis Jumlah Kuadrat

1. Jumlah Perlakuan (t) = 7

Jumlah Ulangan (r) = 3

$$\text{DB Total} = (r \times t) - 1 = 20$$

$$\text{DB Perlakuan} = t - 1 = 6$$

$$\text{DB Galat} = \text{DBT} - \text{DBP} = 14$$

2. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{\Sigma X^2}{r \times t} \\ &= \frac{15.239^2}{3 \times 7} \\ &= 11,058 \end{aligned}$$

3. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$\begin{aligned} \text{JKT} &= \sum X^2 - \text{FK} \\ &= (0,110^2 + 0,136^2 + 0,144^2 + \dots + 1,618^2 + 1,526^2) - 11,058 \\ &= 16,264 - 11,058 \\ &= 5,206 \end{aligned}$$

4. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= \frac{\sum T^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{(0,390^2 + 1,303^2 + 1,221^2 + \dots + 3,445^2 - 4,848^2)}{3} - 11,058 \\ &= 15,767 - 11,058 \\ &= 4,709 \end{aligned}$$

5. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$\begin{aligned} \text{JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 5,206 - 4,709 \\ &= 0,497 \end{aligned}$$

6. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$\begin{aligned} \text{KTP} &= \frac{\text{JKP}}{\text{DBP}} \\ &= \frac{4,709}{6} \\ &= 0,7848 \end{aligned}$$

7. Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$\begin{aligned} \text{KTG} &= \frac{\text{JKG}}{\text{DBG}} \\ &= \frac{0,497}{14} \\ &= 0,0355 \end{aligned}$$

8. F_{Hitung}

$$= \frac{KTP}{KTG}$$

$$= \frac{0,7848}{0,0355}$$

$$= 22,107$$

9. F_{tabel}

F Tabel taraf 5% : 2,85

Tabel 4. Analisis Sidik Ragam (Uji F) Intensitas Warna

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F_{Hitung}	F_{Tabel}
Perlakuan	6	4.709	0.7848	22.107*	2.85
Galat	14	0.497	0.0355		
Total	20	5.206			

Keterangan * : F_{Hitung} berbeda nyata dengan F_{Tabel} pada taraf 5%, maka dilakukan uji lanjut.

uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) (Hanafiah, 2005).

$$S_y = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{0,0355}{3}} = 0,11$$

Tabel 5. Uji Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) Intensitas Warna

Perlakuan	Rerata	Beda dengan						Notasi
		2	3	4	5	6	7	
A	0.130	-						a
C	0.407	0.277	-					a
B	0.434	0.027	0.304	-				a
D	0.512	0.078	0.105	0.382*	-			ab
E	0.832	0.320	0.398*	0.425*	0.702*	-		bc
F	1.148	0.316	0.636*	0.714*	0.741*	1.018*	-	c
G	1.616	0.468*	0.784*	1.104*	1.182*	1.209*	1.486*	d
$P_{0,05\%}$		3.03	3.18	3.27	3.33	3.37	3.39	
BJND $_{0,05\%}$		0.33	0.35	0.36	0.37	0.37	0.38	

Keterangan * : berbeda nyata

2. Data Kadar Asam Lemak Bebas

Tabel 6. Data Kadar Asam Lemak Bebas

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	0.17	0.20	0.17	0.54	0.18
B	0.26	0.23	0.29	0.78	0.26
C	0.29	0.40	0.26	0.95	0.34
D	0.64	0.55	0.69	1.88	0.63
E	0.52	0.96	0.58	2.06	0.69
F	0.40	0.49	0.90	1.79	0.60
G	1.10	1.51	1.22	3.83	1.28
Jumlah (Σ)	3.38	4.38	4.11	11.83	3.98

Analisis Jumlah Kuadrat

1. Jumlah Perlakuan (t) = 7

Jumlah Ulangan (r) = 3

$$\text{DB Total} = (r \times t) - 1 = 20$$

$$\text{DB Perlakuan} = t - 1 = 6$$

$$\text{DB Galat} = \text{DBT} - \text{DBP} = 14$$

2. Faktor Koreksi (FK)

$$\text{FK} = \frac{\Sigma X^2}{r \times t}$$

$$= \frac{(11.83)^2}{3 \times 7} = 6,664$$

3. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$\text{JKT} = \Sigma X^2 - \text{FK}$$

$$= (0,17^2 + 0,20^2 + 0,17^2 + \dots + 1,51^2 + 1,22^2) - 6,664$$

$$= 9,519 - 6,664$$

$$= 2,855$$

4. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= \frac{\sum T^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{(0,54^2 + 0,78^2 + \dots + 3,83^2)}{2} - 6,664 \\ &= 9,151 - 6,664 = 2,487 \end{aligned}$$

5. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$\begin{aligned} \text{JKG} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 2,855 - 2,487 = 0,398 \end{aligned}$$

6. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$\begin{aligned} \text{KTP} &= \frac{\text{JKP}}{\text{DBP}} \\ &= \frac{2,487}{6} = 0,414 \end{aligned}$$

7. Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$\begin{aligned} \text{KTG} &= \frac{\text{JKG}}{\text{DBG}} \\ &= \frac{0,398}{14} = 0,028 \end{aligned}$$

8. F_{Hitung}

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTG}} \\ &= \frac{0,414}{0,028} = 14,786 \end{aligned}$$

9. F_{tabel}

F Tabel taraf 5% : 2,85

Tabel 7. Analisis Sidik Ragam (Uji F) Kadar Asam Lemak Bebas

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F_{Hitung}	F_{Tabel}
Perlakuan	6	2.487	0.414	14.786*	2.85
Galat	14	0.398	0.028		
Total	20	2.885			

Keterangan * : F_{Hitung} berbeda nyata dengan F_{Tabel} pada taraf 5%, maka dilakukan uji lanjut.



Lampiran

Personalia Penelitian

Ketua

- a. Nama : Drs. Mades Fifendy, M.Biomed
- b. Jenis kelamin : Laki-laki
- c. NIP : 195711301988021001
- d. Disiplin Ilmu : Biologi / Mikrobiologi
- e. Pangkat /Gol : Pembina / IVa
- f. Jabatan : Lektor Kepala
- g. Waktu Penelitian : 30 jam/minggu

Anggota

- a. Nama : Irdawati, MSi
- b. Jenis kelamin : Perempuan
- c. NIP : 19704302001122001
- d. Disiplin Ilmu : Biologi / Mikrobiologi
- e. Pangkat/Gol : Penata / IIIc
- f. Jabatan fungsional : Lektor
- g. Waktu Penelitian : 30 jam/minggu

Riwayat Hidup

Anggota Peneliti

- | | |
|--|--|
| 1. Nama Lengkap | : Irdawati,S.Si,MSi. |
| 2. Jenis Kelamin | : Perempuan |
| 3. Jurusan/Fakultas/Pusat | : Biologi/MIPA/UNP |
| 4. Pekerjaan/Jabatan sekarang | : Staf Pengajar/ Tenaga Pengajar |
| 5. NIP | : 197104302001122001 |
| 6. Pangkat/Golongan | : Penata / IIIc |
| 7. Bidang Keahlian | : Mikrobiologi |
| 8. Pengalaman dalam penelitian | 1. Pengaruh Jumlah Starter dan lama fermentasi terhadap produksi Pigmen Merah <i>M. Purpureus</i> pada substrat Ubi kayu.DIPA Tahun 2008 (Ketua)
2. Optimasi Konsentrasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Dalam Pembentukan Pigmen <i>Monascus purpureus</i> Pada Medium Limbah Ubi Kayu (<i>Manihot utilissima</i>) |
| 9. Bidang kegiatan yang saat ini diikuti | - |

Padang, Januari 2011
Yang bersangkutan,

Irdawati, SSi, M.Si.
NIP. 197104302001122001