

Penelitian Eksperimen



PRODUKSI PIGMEN MERAH OLEH *Monascus purpureus*
DALAM MEDIUM LIMBAH UBI KAYU DENGAN JUMLAH STATER
DAN WAKTU FERMENTASI BERBEDA

PETRUPISTANAN UNIT NEGLRI PADANG
TELAH TERDAFTAR

JUDUL : PRODUKSI PIGMEN MERAH
OLEH...

PENGARANG : IRDAWATI, M.Si

USUL PENELITIAN JENIS : LAPORAN PENELITIAN

NOMOR : 502 / H / B / 12 / 14 / 1 / 2008

TANGGAL : 30 SEPTEMBER 2008

Oleh

Irdawati, M.Si
Drs. Mades Fifendy, M.Biomed



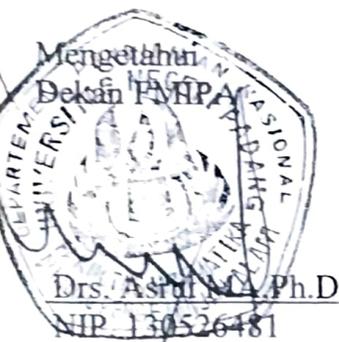
DR. SITARJAN KARIM, M.Si

0550417 498211 1 001

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2008

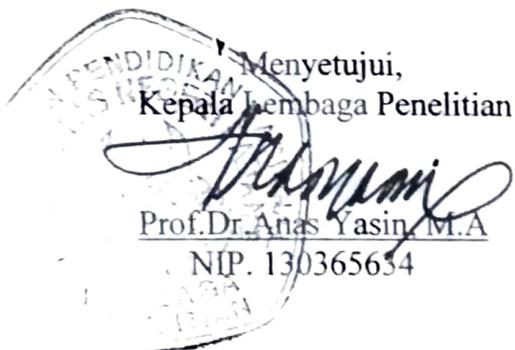
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN

1. a. Judul Penelitian : Produksi Pigmen Merah oleh *Monascus purpureus*
Dalam medium Limbah Ubi Kayu dengan Jumlah Stater dan waktu fermentasi berbeda
- b. Bidang Ilmu : Non Pendidikan Biologi
2. Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Irdawati, M.Si
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Gol/Pangkat/NIP : Penata / IIIc/132298906
- d. Jabatan Fungsional : Lektor
- e. Fakultas/Jurusan : FMIPA/ Biologi
- f. Pusat Penelitian : MIPA
4. Jumlah Tim Peneliti : 1 orang
- a. Nama Anggota Peneliti : Drs. Mades Fifendy, M.Biomed
5. Lokasi Penelitian : Kota Padang
6. Lama Penelitian : 8 bulan
- a. Sumber Dana : Rutin UNP
- b. Jumlah Dana : Rp 4.900.000
(Empat juta sembilan ratus ribu rupiah)



Padang, 10 Maret 2008
Ketua Peneliti,

Irdawati, M.Si
NIP.132298906



PRODUKSI PIGMEN MERAH OLEH *Monascus purpureus* DALAM MEDIUM LIMBAH UBI KAYU DENGAN JUMLAH STARTER DAN LAMA FERMENTASI BERBEDA

Irdawati, Mades Fifendy

Abstrak

*Pigmen merah yang merupakan metabolit skunder dari kapang juga dihasilkan oleh *Monascus purpureus*. Pigmen merah tersebut dikenal juga dengan pigmen angkak, karena dapat memproduksi angkak, yaitu makanan tradisional berupa beras yang sudah difermentasi oleh *M.purpureus* sehingga berwarna merah. Pewarna alami makanan lebih disukai karena lebih aman untuk kesehatan dibandingkan dengan pewarna sintesis yang beberapa diantaranya bersifat karsinogenik. Limbah kulit ubi kayu yang sebenarnya masih mengandung senyawa gizi terutama karbohidrat dapat dimanfaatkan untuk media fermentasi terutama sebagai substrat *M. purpureus* dalam menghasilkan pigmen merah.*

*Pada penelitian ini akan dipelajari Produksi Pigmen Merah oleh *M. purpureus* dalam medium limbah ubi kayu dengan jumlah starter dan lama fermentasi berbeda. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen dengan menggunakan rancangan acak lengkap berpola faktorial.*

*Dari penelitian ini diketahui bahwa produksi pigmen merah oleh *M.purpureus* dalam medium limbah ubi kayu dengan jumlah stater dan waktu fermentasi berbeda menghasilkan konsentrasi pigmen yang berbeda. Absorbansi pigmen tertinggi diperoleh perlakuan jumlah starter 10% dengan lama fermentasi 13 hari yaitu 6,3, sedangkan absorbansi pigmen terendah dihasilkan pada perlakuan jumlah starter 0% dengan lama fermentasi 15 hari yaitu 0,039.*

1. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Monascus merupakan kapang yang diketahui telah banyak digunakan di Asia selama berabad-abad sebagai pewarna makanan dan minuman. Sebagai pewarna alami kapang ini mampu menghasilkan pigmen-pigmen polipeptida seperti pigmen oranye yang dihasilkan oleh *Monascorubrine* dan *Rubropunctatine*, pigmen kuning oleh kapang *Monascin* dan *Ankaflavin* serta pigmen merah oleh *Monascorubraminne* dan *Rubropunctamine* (Chen dan Jons,1993 dalam Timotius dan Hartani 1998).

Pigmen merah yang merupakan metabolit skunder dari kapang juga dihasilkan oleh *Monascus purpureus* . Pigmen merah tersebut dikenal juga dengan pigmen angkak, karena dapat memproduksi angkak, yaitu makanan tradisional berupa beras yang sudah difermentasi oleh *M.purpureus* sehingga berwarna merah. Pewarna alami makanan lebih disukai karena lebih aman untuk kesehatan dibandingkan dengan pewarna sintetis yang beberapa diantaranya bersifat karsinogenik (Jenie dkk,1997).

Selanjutnya diketahui bahwa pigmen-pigmen yang dihasilkan kapang *Monascus* tersebut mempunyai ciri-ciri yang baik sebagai pewarna makanan, karena warna yang dihasilkannya menarik, serta memiliki sifat ketahanan warna dan kelarutan dalam air saat digabungkan dengan senyawa-senyawa yang sesuai (Chen dan John,1993 dalam Timotius dan Hartani,1998). Selain itu pigmen-pigmen ini tidak menyebabkan efek racun pada tikus (Gremmels dan Leistner,1989 dalam Juzlova dkk,1996 dalam Timotius dan Hartani,1998), serta tidak menyebabkan ketidak normalan proliferasi sel limfosit dan reaksi alergi pada tikus (Fardiaz,dkk.,1996 dalam Timotius dan Hartani,1998).

Berdasarkan penelitian Badan Pengawasan Obat dan Makanan bahwa dari 163 sampel jajanan anak yang diuji di 10 provisinsi terdapat 80 sampel atau besar dari 50% tidak memenuhi baku mutu keamanan pangan karena kebanyakan dari jajanan yang bermasalah tersebut mengandung boraks, formalin, zat pengawet, zat pewarna serta garam yang tidak beryodium. Terutama zat pewarna yang digunakan adalah zat pewarna sintetis yang diantaranya mengandung senyawa Rhodamin B dan metamil yellow yang termasuk zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya bagi tubuh (Permenkes RI no.239/Menkes/PerV/1985) (Republika,2002).

Rhodamin B yang sebenarnya digunakan sebagai pewarna tambahan pada obat-obatan, kosmetik, pewarna kain, sabun. Rhodamin B dapat mengakibatkan kerusakan pada hati, tumor hati, dapat melukai mata dan bersifat karsinogenik atau dapat merangsang sel-sel kanker. Sedangkan metamil Yellow yang sebenarnya berfungsi sebagai indikator dalam larutan, obat-obatan dan pemakaian luar dapat menyebabkan muntah, mual, edema paru, nekrosis hati, gangguan ginjal dan kanker saluran urin. Karena itu dicari solusi yang lebih aman dengan pewarna alami dari kapang dengan memanfaatkan limbah ubi kayu berupa kulit luarnya sebagai substrat kapang *M.purpureus*.

Secara garis besar kegunaan ubi kayu terbagi tiga yaitu sebagai bahan makanan manusia, bahan pakan ternak dan bahan industri. Pada umumnya seluruh bagian tanaman ubi kayu dapat dimanfaatkan terutama umbinya yang banyak dimanfaatkan dan menghasilkan limbah kulit ubi kayu yang sebenarnya masih mengandung senyawa gizi terutama karbohidrat yang dapat dimanfaatkan untuk media fermentasi terutama sebagai substrat *M. purpureus* dalam menghasilkan pigmen merah.

Pigmen merah yang dihasilkan oleh *M. purpureus* merupakan metabolit sekunder yang secara alami, sintesis dan produksi metabolit oleh mikroba sangat sedikit jumlahnya. Sehingga untuk memperoleh metabolit tertentu dalam jumlah yang cukup banyak untuk diproduksi secara komersial diperlukan usaha dan modifikasi, baik terhadap mikrobanya maupun terhadap kondisi pertumbuhan mikroba tersebut. Karena itu konsentrasi inokulum awal atau starter dan pH yang optimum dan lama fermentasi, ikut menentukan keberhasilan dalam memproduksi pigmen merah.

Bertitik tolak dari hal di atas maka telah dilakukan penelitian mengenai produksi pigmen merah oleh *Monascus purpureus* dalam medium limbah ubi kayu dengan jumlah starter dan waktu fermentasi berbeda.

B. Perumusan Masalah

Penggunaan pewarna sintetis menimbulkan efek yang tidak aman bagi kesehatan terutama dengan sifatnya yang dapat merangsang sel kanker. Untuk mengatasi hal ini maka salah satu solusinya adalah menggunakan pewarna alami yang tidak mengganggu kesehatan serta lebih stabil warnanya yang diproduksi oleh kapang *Monascus purpureus*

dengan memanfaatkan limbah ubi kayu sebagai substratnya. Yang ingin dilihat dalam hal ini adalah bagaimana produksi pigmen merah oleh *Monascus purpureus* dalam medium limbah ubi kayu dengan jumlah stater dan waktu fermentasi berbeda.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk mengetahui produksi pigmen merah oleh *Monascus purpureus* dalam medium limbah ubi kayu dengan jumlah stater dan waktu fermentasi berbeda.

D. Hipotesis Penelitian

Produksi pigmen merah oleh *Monascus purpureus* dalam medium limbah ubi kayu dengan jumlah stater dan waktu fermentasi berbeda menghasilkan konsentrasi pigmen yang berbeda.

E. Kontribusi Penelitian

Penelitian diharapkan berguna menambah khasanah ilmu pengetahuan dan sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya dalam upaya pengembangan pewarna alami dari mikroba yang aman untuk dikonsumsi.

II. KERANGKA TEORITIS

Kapang yang mampu memproduksi pigmen merah hanya kapang dari genus *Monascus*. Dari berbagai macam spesies yang paling sering digunakan adalah *Monascus purpureus*. Menurut Alexopoulos (1979), kapang *M. purpureus* termasuk ke dalam division Amastigomycota; sub division Ascomycotina; klas Ascomycetes; sub klas Plectomycetidae; ordo Eurotiales; famili Monascaceae dan genus *Monascus*.

Selama pertumbuhannya kapang jenis *M. purpureus* mengeluarkan cairan granular yang melewati ujung-ujung hifa. Menurut Yuan (1980) dalam Ridawati (1993), hasil ekstrusi cairan bersatu pada ujung hifa dan membentuk cairan seperti getah yang tidak beraturan bentuknya. Cairan ini kemudian pecah dan menyebarkan partikel-partikel bulat kecil ke sekeliling ujung hifa. Ketika kultur ini masih muda, cairan hasil ekstrusinya tidak berwarna, tetapi kemudian secara bertahap terjadi perubahan menjadi kemerahan, merah, kekuningan atau jingga apabila kultur ditumbuhkan pada media PDA (Potato Dextrose Agar) atau agar Saboraud. Zat warna merah yang dihasilkan tidak hanya dapat diamati pada kandungan bagian dalam hifa. Zat warna merah ini dapat berdifusi menembus bagian dalam substrat (Hesseltine, 1965 dalam Ridawati, 1993).

Pigmen merah yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* merupakan metabolit sekunder yang secara alami, sintesis dan produksi metabolit oleh mikroba sangat sedikit jumlahnya. Sehingga untuk memperoleh metabolit tertentu dalam jumlah yang cukup besar untuk diproduksi secara komersial diperlukan usaha dan modifikasi, baik terhadap mikrobanya maupun terhadap kondisi pertumbuhan mikroba tersebut.

Katabolisme substrat oleh mikroba dimulai dengan pemecahan senyawa-senyawa makromolekul yang terdapat dalam substrat tersebut. Karbohidrat merupakan sumber energi yang dominan bagi mikroba yang diperlukan dalam proses glikolisis yang hasil akhirnya adalah senyawa piruvat. Menurut Carels dan Shepherd (1978) dalam Ridawati (1993), bila nitrogen yang terdapat dalam substrat habis, maka hasil dari glikolisis dialihkan untuk membentuk metabolit sekunder. Asam piruvat dari lintasan Heksosa Difosfat mengalami dekarboksilasi oksidatif dengan bantuan enzim piruvat dehidrogenase dan koenzim A membentuk asetil KoA, kemudian terbentuk unit-unit malonil KoA.

Asetil KoA dan Malonil KoA kemudian membentuk gugus poliketida yang dapat digunakan untuk pembentukan pigmen.

Pigmen merah dikenal juga dengan pigmen angkak, karena dapat memproduksi angkak, yaitu makanan tradisional berupa beras yang sudah difermentasi oleh *M.purpureus* sehingga berwarna merah. Mevinolin dan lovastatin adalah dua komponen bioaktif yang diketahui terdapat di dalam angkak dan berfungsi menurunkan kolesterol di dalam darah (Ardyansyah,2007). Pewarna alami makanan lebih disukai karena lebih aman untuk kesehatan dibandingkan dengan pewarna sintetis yang beberapa diantaranya bersifat karsinogenik (Jenie dkk., 1997).

Sebagai pewarna alami, pigmen angkak memiliki sifat yang cukup stabil dan dapat bercampur dengan pigmen warna lain, serta tidak beracun. Pigmen warna utama yang dihasilkannya adalah monaskorubrin dan monaskoflavin. Stabilitas pigmen angkak dipengaruhi oleh sinar matahari, sinar ultra violet, kondisi asam basa (pH) dan juga suhu.

Hasil penelitian Astawan (2008) menunjukkan bahwa pigmen angkak pigmen angkak memiliki aktifitas sebagai antimikroba, sehingga sangat cocok digunakan sebagai bahan pewarna pada bahan makanan yang mudah terkontaminasi mikroba. Dengan demikian angkak dapat berperan ganda, yaitu sebagai pewarna dan sekaligus pengawet, karena terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan perusak yang berspora seperti *Bacillus cereus* dan *B. stearothermophilus* .

Bahan Tambahan Makanan (BTM) dalam produksi pangan olahan untuk tujuan komersial tidak mungkin dihindari. BTM, selain berfungsi sebagai pengawet dalam menghambat aktifitas mikroba juga berperan dalam meningkatkan cita rasa dan penstabilan warna sehingga penampilannya terkesan lebih menarik. Penggunaan BTM dibolehkan pada dosis di bawah ambang batas yang telah ditentukan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) serta tidak termasuk ke dalam kelompok bahan makanan tambahan yang dilarang dipakai. Masalah yang terjadi sekarang dan masih dilematis, para pengusaha pangan olahan sebagian tidak mengindahkan peraturan tersebut sehingga konsumen yang akan menanggung akibatnya, mengkonsumsi pangan yang berpeluang menimbulkan penyakit.

Rhodamin B yang sebenarnya sebagai pewarna tambahan pada obat-obatan,kosmetik,pewarna kain, sabun dapat mengakibatkan kerusakan pada hati, tumor

hati , dapat melukai mata dan bersifat karsinogenik atau dapat merangsang sel-sel kanker. Sedangkan metamil yellow yang sebenarnya berfungsi sebagai indikator dalam larutan, obat-obatan dan pemakaian luar dapat menyebabkan muntah, mual, edema paru, nekrosis hati, gangguan ginjal dan kanker saluran urin. Karena itu dicari solusi yang lebih aman dengan pewarna alami dari kapang dengan memanfaatkan limbah ubi kayu berupa kulit luarnya sebagai substrat kapang *M.purpureus*.

Ubi kayu atau ketela pohon atau “cassava” merupakan makanan pokok nomor tiga setelah padi dan jagung. Pertumbuhannya yang pesat didukung oleh sifatnya yang tahan terhadap kekeringan, dapat tumbuh pada tanah yang kurang subur serta tahan terhadap tanaman pengganggu dan serangga. Umbinya bertahan di dalam tanah beberapa lama tanpa mengalami pembusukan serta waktu penanaman tidak bergantung pada musim (Purseglove, 1968). Sebagai bahan makanan manusia, bahan pakan ternak dan bahan industri, seluruh bagian tanaman ubi kayu dapat dimanfaatkan terutama umbinya yang banyak dimanfaatkan dan menghasilkan limbah kulit ubi kayu yang sebenarnya masih mengandung senyawa gizi terutama karbohidrat yang dapat dimanfaatkan untuk media fermentasi terutama sebagai substrat *Monascus purpureus* dalam menghasilkan pigmen merah.

Menurut Sediaoetama (1999) kandungan zat gizi yang terdapat dalam 100 g ubi kayu cukup tinggi (Tabel 1) terutama kalori dan karbohidratnya yang sangat diperlukan oleh *Monascus purpureus* dalam proses fermentasi untuk memproduksi pigmen merah.

Tabel 1. Susunan Zat gizi dalam 100 g ubi kayu

Zat Gizi	Kandungan/100 g
1. Kalori	146 kal
2. Protein	1,6 g
3. Lemak	0,3 g
4. Karbohidrat	34,7 g
5. Ca	33 g
6. P	40 g
7. Fe	0,7 g
8. Vitamin C	38 g
9. Thiamin (vitamin B1)	0,02 g

Pigmen merah yang dihasilkan oleh *M. purpureus* merupakan metabolit sekunder yang secara alami, sintesis dan produksi metabolit oleh mikroba sangat sedikit jumlahnya. Sehingga untuk memperoleh metabolit tertentu dalam jumlah yang cukup besar untuk diproduksi secara komersial diperlukan usaha dan modifikasi, baik terhadap mikrobanya maupun terhadap kondisi pertumbuhan mikroba tersebut. Karena itu konsentrasi inokulum atau jumlah starter dan pH yang optimum, serta lama fermentasi ikut menentukan keberhasilan dalam memproduksi pigmen merah.

III. METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Sesuai dengan masalah yang diteliti, maka jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen.

B. Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan April sampai Oktober 2008 di laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah spektrofotometer, shaker, cawan petri, tabung reaksi, lampu spritus, mikro pipet, gelas ukur, jarum ose, timbangan, sentrifus, erlenmeyer, autoklav, kompor listrik, oven listrik, pipet tetes, vorteks, beker glass, timbangan analitis, sentrifuse, batang pengaduk, kertas saring, aluminium foil, corong pemisah, kain kasa.

Bahan yang akan di pakai yaitu kulit ubi kayu, tepung beras, NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, *Monascus purpureus*, akuades, alkohol, spritus, Potato Dextrosa Agar.

D. Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) berpola factorial dengan 3 ulangan.

Perlakuan adalah sebagai berikut :

Faktor A : Jumlah stater

A0. Jumlah stater 0% (v/v)

A1. Jumlah stater 6% (v/v)

A2. Jumlah stater 8% (v/v)

A3. Jumlah stater 10% (v/v)

A4. Jumlah stater 12% (v/v)

A5. Jumlah stater 14% (v/v)

Faktor B : Lama fermentasi

B1. Lama fermentasi 9 hari

B2. Lama fermentasi 11 hari

B3. Lama fermentasi 13 hari

B3. Lama fermentasi 15 hari

B3. Lama fermentasi 17 hari

E. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Penelitian

1.1. Penyiapan bahan atau media fermentasi

Bahan yang digunakan berupa kulit ubi kayu dikupas dan dibersihkan dari kulit mati terluarnya. Kemudian diblender tanpa penambahan air dan sari patinya diambil dan disaring.

1.2. Peyediaan Biakan Murni *Monascus Purpureus*

Biakan Murni *Monascus Purpureus* diperoleh dari jurusan Teknik Kimia Institut Teknologi Bandung. Untuk perbanyak, satu ose biakan murni *Monascus Purpureus* diinokulasikan pada agar miring yang berisi medium Potato Dextrosa Agar (PDA). Dan diinkubasi selama 5 hari. Medium PDA instant dibuat dengan cara menimbang PDA sebanyak 20 gr dan masing-masing dimasukkan ke dalam beker glass yang berbeda lalu ditambahkan akuades sampai volume 1000 ml. Dipanaskan sampai mendidih dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Terakhir disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121⁰C pada tekanan 15 psi selama 15 menit.

1.3. Pembuatan stater *M. purpureus*

Kulit ubi kayu dibersihkan dari kulit terluarnya, kemudian diblender dan diambil cairan sari patinya dengan menyaringnya dengan kain kasa. Kemudian ke dalam 100 ml sari pati kulit ubi kayu ditambahkan tepung beras 4%, lalu ditambahkan NH₄NO₃ 0,15% dan KH₂PO₄ 0,25% dan terakhir tambahkan 0,10% MgSO₄·7H₂O. Lalu diatur pHnya sampai 6, seterusnya disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121⁰C, selama 20 menit. Setelah dingin, diinokulasikan spora kapang, lalu diinkubasi pada shaker selama 7 hari (Jenie,dkk.,1994).

2. Pelaksanaan Penelitian

Media fermentasi berupa saripati kulit ubi kayu dipanaskan selama 15 menit pada suhu 100°C. Setelah media dingin, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml sebanyak 100 ml, kemudian ditambahkan stater sesuai dengan perlakuan dan dinkubasi juga sesuai dengan lama fermentasi perlakuan yang telah ditentukan.

3. Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap kepekatan pigmen merah yang dihasilkan dengan menggunakan spektrofotometer. Kultur yang telah ditumbuhkan dipanen dengan cara disaring, lalu supernatan yang diperoleh disentrifus selama 15 menit. Untuk mengetahui konsentrasi pigmen diamati absorbansi supernatant pada panjang gelombang 500 nm (A500) .

F. Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis ragam atau Anava. Hasilnya menunjukkan perbedaan yang nyata, dan dianalisis lebih lanjut dengan Uji Duncan (DNMRT) .

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Analisis Data

Dari hasil penelitian mengenai produksi pigmen merah oleh *Monascus purpureus* dalam medium limbah ubi kayu dengan jumlah stater dan waktu fermentasi berbeda didapatkan rata-rata absorbansi pigmen merah hasil fermentasi pada kulit ubi kayu oleh *M. purpureus*. Hal ini dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata absorbansi pigmen merah hasil fermentasi oleh *M. purpureus* pada kulit ubi kayu

Faktor A	Faktor B					Rerata
	Bo	B1	B2	B3	B4	
A ₄	6,099	5,102	4,998	5,824	6,05	5,615 A
A ₁	6,096	6,084	5,556	5,378	5,902	5,803 A
A ₂	5,957	6,146	5,819	6,120	6,000	6,008 A
A ₃	5,870	5,757	6,300	5,940	5,113	5,796 A
A ₀	0,257	0,655	0,268	0,039	0,077	0,259 B
A ₅	0,192	0,423	0,155	0,065	0,267	0,220 B
Rerata	4,078	4,028	3,849	3,894	3,901	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil atau huruf besar yang sama tidak berbeda nyata pada tahap 5 %.

Dilihat dari faktor A (jumlah starter) ternyata jumlah starter berpengaruh terhadap absorbansi pigmen yang dihasilkan. absorbansi pigmen tertinggi didapatkan pada jumlah stater 8% (A₂) dan terendah pada jumlah stater 0% (kontrol, A₀). Ditinjau dari faktor B (lama fermentasi) ternyata lama fermentasi tidak berpengaruh terhadap intensitas pigmen yang dihasilkan.

Faktor A dan B (jumlah starter dan lama fermentasi) memiliki interaksi (analisis data pada lampiran I) artinya kedua faktor yaitu jumlah starter dan lama fermentasi berpengaruh terhadap intensitas pigmen yang dihasilkan. Dari interaksi

kedua faktor ternyata intensitas pigmen yang paling tinggi dihasilkan pada jumlah starter 10% dengan lama fermentasi 11 hari (perlakuan A₃B₂).

B. Pembahasan

Intensitas pigmen tertinggi dihasilkan pada perlakuan A₃B₂ (jumlah starter 10% dengan lama fermentasi 13 hari) yaitu 6,3 , sedangkan kadar pigmen terendah dihasilkan pada perlakuan A₀B₃ (jumlah starter 0 % dengan lama fermentasi 15 hari) yaitu 0,039.

Tingginya intensitas pigmen pada perlakuan pada A₃B₂ disebabkan oleh pemberian starter 10% dengan 13 hari fermentasi merupakan jumlah dan waktu yang paling tepat bagi *Monascus purpureus* dalam menghasilkan pigmen warna merah. Lama fermentasi 13 hari merupakan fase stasionari atau fase pertumbuhan yang tetap dimana kadar pigmen baru dihasilkan dalam jumlah yang maksimal oleh *Monascus purpureus* pada medium limbah kulit ubikayu.

Pigmen merupakan metabolit skunder yang dihasilkan terutama pada fase stasioner. Pertumbuhan *Monascus purpureus* tergantung pada medium dan faktor lingkungan. Pada penelitian ini digunakan medium limbah kulit ubi kayu tanpa penambahan zat lain. Karena itu pertumbuhannya lebih lama, sehingga pada hari fermentasi ke 13 baru didapatkan kadar pigmen tertinggi.

Sebagaimana yang dikemukakan Fardias (1988) bahwa metabolit skunder adalah hasil metabolisme yang tidak diperlukan untuk pertumbuhan sel dan produksinya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan serta dibentuk pada akhir masa pertumbuhan atau awal fase stasioner. Menurut Reed (1983) bahwa jumlah starter yang tepat akan memberikan hasil yang baik dalam proses fermentasi. Juga telah dijelaskan oleh Frazier dan Westhoff (1983: 149) bahwa produk suatu fermentasi sangat

tergantung pada jumlah starter, lama fermentasi, substrat, enzim, suhu, pH, dan kandungan gula yang digunakan.

Rendahnya absorbansi pigmen pada perlakuan A₀B₃ (jumlah starter 0% dan lama fermentasi 15 hari) disebabkan oleh tidak diberikannya starter pada medium fermentasi dan juga waktu fermentasi yang lebih lama. Penambahan starter bertujuan untuk memacu proses fermentasi dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang lain. Bila starter tidak ditambahkan fermentasi tetap bisa berjalan, dengan dibantu mikroorganisme alami yang sudah ada dalam limbah kulit ubi kayu. Namun karena mikroorganisme beragam maka hasil fermentasi juga beragam sehingga tidak hanya *Monascus purpureus* yang hidup dan membentuk pigmen tapi juga terbentuk senyawa lainnya dari mikroba yang beragam tadi.

Dari hasil penelitian Ridawati (1993) mengenai produksi pigmen oleh *M. purpureus* pada media campuran limbah cair tapioka, ampas tapioka dan ampas tahu didapat hasil absorbansi pigmen merah tertinggi pada lama fermentasi 12 hari dengan menggunakan jumlah stater 10% (v/v) dan setelah fermentasi 12 hari terjadi pemucatan dan penurunan kadar pigmen.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. KESIMPULAN

1. Produksi pigmen merah oleh *Monascus purpureus* dalam medium limbah ubi kayu dengan jumlah starter dan waktu fermentasi berbeda menghasilkan konsentrasi pigmen yang berbeda.
2. Absorbansi pigmen tertinggi diperoleh perlakuan jumlah starter 10% dengan lama fermentasi 13 hari) yaitu 6,3 , sedangkan absorbansi pigmen terendah dihasilkan pada perlakuan jumlah starter 0 % dengan lama fermentasi 15 hari yaitu 0,039.

5.2. SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan mengamati benarkah zat warna merah itu *Monascorubraminne* dan *Rubropunctamine*.

Daftar Pustaka

Alexopoulos dan W.C.Mims. 1979. *Introductory Mycology*. Third Edition. John Wiley dan Sons; New York.

Ardyansyah. 2007. Khasiat Angkak. Dari : [Http://www. Halalguide.info](http://www.halalguide.info) Powered by journal generated. Diakses tanggal 15 Februari 2008

Astawan,M. 2008. Gaya Hidup Sehat. Dari : [Http://www. Kompos . com](http://www.kompos.com). Diakses tanggal 15 Februari 2008

Awan, S. 2002. Bahan Tambahan Makanan yang Berbahaya. Dari : [Http://www. Republika.co.id](http://www.republika.co.id)

Fardiaz,S.1988. *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor

Jenie, dkk. 1994. Produksi Konsentrat dan Bubuk Pigmen Angkak dari *M.purpureus* serta stabilitasnya selama Penyimpanan. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 8 (2): 39-46

Jenie, dkk. 1997. Produksi Angkak oleh *M.purpureus* dalam Medium Limbah cair tapioca,onggok dan Limbah Padat tahu. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 5 (3): 60-64

Purseglove,J.W. 1968. *Tropical Crops*. 1 st ed. Long mans Green and Co ltd. London.

Ridawati. 1993. Produksi Pigmen oleh *M.purpureus* pada media Campuramn Limbah Cair Tapioka, ampas tapioca dan Ampas Tahu. *Skripsi S1*. IPB Bandung

Sediaoetama, AD. 1999. *Ilmu Gizi*. Dian Rakyat. Jakarta

Timotius dan Hartani. 1998. Pertumbuhan dan Produksi Pigmen oleh *M. purpureus* dalam Medium Air rendaman Kedelai. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 9 (1).

LAMPIRAN

1. Personalia

Ketua

Nama : Irdawati, Msi

NIP : 132 298 906

Pangkat/Gol : Penata / IIIc

Jabatan : Lektor

Anggota

Nama : Drs. Mades Fifendy, M.Biomed

NIP : 131 759 041

Pangkat/Gol : Penata / IIIC

Jabatan : Lektor

LAMPIRAN

Lampiran 2. Analisis Statistik absorbansi pigmen

Perlakuan		Ulangan			Jumlah	Rata-rata
Konsentrasi Starter	Lama Fermentasi	I	II	III		
A₀	B ₀	0.456	0.082	0.233	0.771	0.257
	B ₁	0.533	0.684	0.748	1.965	0.655
	B ₂	0.433	0.149	0.223	0.805	0.268
	B ₃	0.018	0.034	0.064	0.116	0.039
	B ₄	0.097	0.077	0.057	0.231	0.077
					3.888	1.296
A₁	B ₀	6.289	6.000	6.000	18.289	6.096
	B ₁	6.612	6.000	5.641	18.253	6.084
	B ₂	6.000	6.000	4.669	16.669	5.556
	B ₃	4.352	6.000	5.781	16.133	5.378
	B ₄	6.000	6.000	5.707	17.707	5.902
					87.051	29.017
A₂	B ₀	6.000	6.000	5.870	17.870	5.957
	B ₁	5.630	6.423	6.384	18.437	6.146
	B ₂	6.226	6.000	5.231	17.457	5.819
	B ₃	6.000	6.361	6.000	18.361	6.120
	B ₄	6.000	6.000	6.000	18.000	6.000
					90.125	30.042
A₃	B ₀	6.345	6.000	5.264	17.609	5.870
	B ₁	6.000	5.271	6.000	17.271	5.757
	B ₂	5.801	6.544	6.556	18.901	6.300
	B ₃	6.000	5.821	6.000	17.821	5.940
	B ₄	4.000	6.000	5.339	15.339	5.113
					86.941	28.980
A₄	B ₀	6.296	6.000	6.000	18.296	6.099
	B ₁	6.000	3.307	6.000	15.307	5.102
	B ₂	4.502	4.493	6.000	14.995	4.998
	B ₃	6.000	6.000	5.471	17.471	5.824
	B ₄	6.000	5.279	6.871	18.150	6.050
					84.219	28.073
A₅	B ₀	0.208	0.352	0.017	0.577	0.192
	B ₁	0.240	0.421	0.607	1.268	0.423
	B ₂	0.062	0.164	0.239	0.465	0.155
	B ₃	0.122	0.038	0.034	0.194	0.065
	B ₄	0.253	0.259	0.288	0.800	0.267
					3.304	1.101
Jumlah				355.528	118.5093	

Faktor:

Faktor A : Konsentrasi starter (0%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14%)

Faktor B : Lama fermentasi (9 hari, 11 hari, dan 13 hari , 15 hari, 17 hari)

❖ **Derajat bebas (db)**

$$\text{db Total} = r A B - 1 = (3 \cdot 6 \cdot 5) - 1 = 89$$

$$\text{db Perlakuan} = A B - 1 = (6 \times 5) - 1 = 29$$

$$\text{db A} = A - 1 = 6 - 1 = 5$$

$$\text{db B} = B - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$\begin{aligned} \text{db Interaksi (AB)} &= (A - 1) \times (B - 1) \\ &= (6 - 1) \times (5 - 1) = 20 \end{aligned}$$

$$\text{db Galat} = A B (r - 1) = 6 \times 5 (3 - 1) = 60$$

❖ **Faktor Koreksi (FK)**

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{(\sum xi)^2}{r \cdot A \cdot B} \\ &= \frac{(355,528)^2}{3 \cdot 6 \cdot 5} \\ &= 1404,4462 \end{aligned}$$

❖ **Jumlah kuadrat**

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= \sum x_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= 0,456^2 + 0,082^2 + \dots 0,288^2 - 1404,4462 \\ &= 644,7201 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \sum \frac{T_{ij}^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{0,771^2 + \dots 0,800^2}{3} - 1404,4462 \\ &= 628,7225 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 644,7201 - 628,7225 \\ &= 15,9976 \end{aligned}$$

Tabel Interaksi konsentrasi starter dan lama fermentasi

Faktor A	Faktor B					Jumlah
	Bo	B1	B2	B3	B4	
Ao	0.771	1.965	0.805	0.116	0.231	3.888
A1	18.289	18.253	16.669	16.133	17.707	87.051
A2	17.870	18.437	17.457	18.361	18.000	90.125
A3	17.609	17.271	18.901	17.821	15.339	86.941
A4	18.296	15.307	14.995	17.471	18.150	84.219
A5	0.577	1.268	0.465	0.194	0.800	3.304
Jumlah	73.412	72.501	69.292	70.096	70.227	

$$\begin{aligned}
 \diamond \text{ JK A} &= \frac{3,888^2 + \dots + 3,304^2}{r \cdot B} - FK \\
 &= \frac{30.378,0026}{15} - 1404,4462 \\
 &= 620,7540
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \diamond \text{ JK B} &= \frac{73,412^2 + \dots + 70,227^2}{r \cdot A} - 1404,4462 \\
 &= \frac{25.292,379}{18} - 1404,4462 \\
 &= 0,6859
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \diamond \text{ JK AB} &= \text{JKP} - \text{JKA} - \text{JKB} \\
 &= 628,7225 - 620,7540 - 0,6859 \\
 &= 7,2826
 \end{aligned}$$

❖ Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT P} = \frac{\text{JKP}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{628,7225}{29} = 21,68$$

$$\text{KT A} = \frac{\text{JKA}}{\text{dbA}} = \frac{620,7540}{5} = 124,1508$$

$$\text{KT B} = \frac{\text{JKB}}{\text{dbB}} = \frac{0,6859}{4} = 0,1715$$

$$KT_{AB} = \frac{JK_{AB}}{db_{AB}} = \frac{7,2826}{20} = 0,364$$

$$KT_G = \frac{JK_G}{db_{Galat}} = \frac{15,9976}{60} = 0,2666$$

$$\diamond F_{hitung} \text{ Perlakuan} = \frac{KTP}{KTG} = \frac{21,68}{0,2666} = 81,32$$

$$F_{hitung} A = \frac{KTA}{KTG} = \frac{124,1508}{0,2666} = 465,682$$

$$F_{hitung} B = \frac{KTB}{KTG} = \frac{0,1715}{0,2666} = 0,643$$

$$F_{hitung} AB = \frac{KTAB}{KTG} = \frac{0,364}{0,2666} = 1,365$$

Tabel Analisis Sidik Ragam

Sumber Variasi	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel 5 %}
Perlakuan	29	628,7225	21,68	81,32*	1.67
A	5	620,7540	124,1508	465,68*	2.37
B	4	0,6859	0,1715	0,643	2.52
AB	20	7,2826	0,364	1,365*	1.75
Galat	60	15,9976	0,2666		
Total	118	644,7201			

Keterangan: * berbeda nyata dengan F_{tabel} pada taraf 5 %

❖ Koefisien Keragaman (KK)

$$KK = \frac{\sqrt{KTG}}{Y} \times 100 \%$$

$$KK = \frac{\sqrt{0,2666}}{355,528/90} \times 100 \% = 13 \%$$

Keterangan

Pengaruh konsentrasi starter dan lama fermentasi terhadap kadar pigmen besar dari 10 %, maka uji yang digunakan adalah DNMRT .

Kadar pigmen rata-rata pada faktor A (Konsentrasi starter)

$$A_0 = 0,259$$

$$A_1 = 5,803$$

$$A_2 = 6,008$$

$$A_3 = 5,796$$

$$A_4 = 5,615$$

$$A_5 = 0,220$$

$$P \text{ (jumlah perlakuan)} = 6$$

$$V \text{ (Derajat bebas galat)} = 60$$

$$Q_{0,05} = 3,20$$

$$S \bar{y}_A = \sqrt{\frac{KTG}{r \cdot B}} = \sqrt{\frac{0,2666}{3 \cdot 5}} = 0,133$$

$$\begin{aligned} \text{DNMRT}_{0,05} &= Q_{0,05} (p.v) \times S \bar{d} \\ &= 3,20 \times 0,133 = 0,427 \end{aligned}$$

Tabel wilayah pada taraf 5 %

Perlakuan	Rata-rata	Jarak Nyata pada Taraf 5 %					DNMRT _{0,05} = 0,493
A ₄	6,099	-					A
A ₁	6,096	0,003	-				A
A ₂	5,957	0,142	0,139	-			A
A ₃	5,870	0,229	0,226	0,087	-		A
A ₀	0,257	5,842*	5,839*	5,700*	5,613*	-	B
A ₅	0,192	5,907*	5,904*	5,765*	5,678*	0,065	B

Kesimpulan Faktor A

Perlakuan	Rata-rata pada taraf 5 %
A ₄	6,099 A
A ₁	6,096 A
A ₂	5,957 A
A ₃	5,870 A
A ₀	0,257 B
A ₅	0,192 B

Interaksi Faktor A dan B

$$S \bar{y}_{AB} = \sqrt{\frac{KTG}{r}} = \sqrt{\frac{0,2666}{3}} = 0,298$$

$$\begin{aligned} \text{DNMRT}_{0,05} &= Q_{0,05} (p.v) \times S \bar{d} \\ &= 3,47 \times 0,298 = 1,03 \end{aligned}$$

Faktor A	Faktor B					Rerata
	Bo	B1	B2	B3	B4	
A ₄	6,099 a	5,102 a	4,998 a	5,824 a	6,05 a	5,615 A
A ₁	6,096 a	6,084 a	5,556 a	5,378 a	5,902 a	5,803 A
A ₂	5,957 a	6,146 a	5,819 a	6,120 a	6,000 a	6,008 A
A ₃	5,870 a	5,757 a	6,300 a	5,940 a	5,113 a	5,796 A
A ₀	0,257 c	0,655 b	0,268 c	0,039 c	0,077 c	0,259 B
A ₅	0,192 c	0,423 c	0,155 c	0,065 c	0,267 c	0,220 B
Rerata	4,078	4,028	3,849	3,894	3,901	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil atau huruf besar yang sama tidak berbeda nyata pada tahap 5 %.

Lampiran 3. Dokumentasi penelitian



Gambar . Substrat yang sudah difermentasi *Monascus purpureus*



Gambar . Spektrofotometer UV