

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

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: 437). Ditambahkan oleh Winarno dalam Ridawati (1993: 1) 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: 1).

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 *Monascus purpureus* ini memiliki cir-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, 1998: 16).

Angkak adalah beras merah China. Pembuatan angkak pertama kali di China adalah pada Dinasti Ming. Angkak dibuat melalui proses fermentasi beras dengan kapang *Monascus purpureus*. Sering digunakan sebagai obat dan bahan pangan.

Senyawa obat yang terdapat di dalam beras merah yang K difermentasi oleh *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, 2001: 1).

Prinsip dasar pembuatan minyak kelapa dengan fermentasi adalah penambahan jamur, khamir, ataupun bakteri tertentu ke dalam santan kelapa (Mukhtar, 1981 dalam Sarun, 1998: 3). 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 di oksidasi 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 anti virus, anti bakteri, anti jamur dan anti protozoa, 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*. Namun dalam pembuatan VCO berwarna belum ada informasi lama fermentasi yang optimal dalam menghasilkan pigmen *M. purpureus*. Berdasarkan hal tersebut peneliti telah melakukan penelitian dengan judul "**Intensitas Warna Yang Dihasilkan Oleh *Monascus purpureus* Pada 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 pada *M. Purpureus* 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 dan 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 kondisiopora yang muncul dari miselium yang terendam dalam medium. *M. purpureus* adalah jenis jamur yang menghasilkan warna jika ditumbuhkan pada substrat yang mengandung pati (Meyer dalam Erdogul and Azirak, 2004).

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

Kingdom	: Fungi
Divisio	: Amastigomycotina
Subdivisio	: Ascomycota
Klas	: Ascomycetes
Subklas	: Plectomycetidae
Ordo	: Eurotiales
Famili	: Monascaceae
Genus	: <i>Monascus</i>
Spesies	: <i>Monascus purpureus</i>

Miselium *Monascus* tumbuh lebat dan hifa-hifanya berseptata serta bercabang tidak beraturan, hialin berukuran 3 μm sampai 5 μm . Pada dinding hifa dengan masa berwarna jingga merah. Menurut Hesseltine (1965) dalam Sudarsono (1990: 9) lebih lanjut menyatakan, selama pertumbuhannya *M. purpureus* menampakkan keanehannya yaitu saat terjadi proses ekstrusi cairan granular melewati ujung-ujung hifa, pada kultur muda cairan ini tidak berwarna lambat daun berubah menjadi merah dan orange. Pigmen ini mampu berdifusi menembus substrat.

Menurut Kasim (2006: 7), intensitas pigmen merah yang dihasilkan kapang *Monascus* sp tergantung pada nutrisi dan kondisi lingkungannya. Dari hasil penelitian Fardiaz dalam Kasim (2005: 247) menyatakan bahwa pigmen yang dihasilkan oleh *M. purpureus* tidak bersifat toksik serta tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh.

Pigmen yang dihasilkan oleh *Monascus* adalah hasil pemecahan dari kumpulan cairan ekstrusi pada ujung hifa. Pembentukan pigmen *Monascus* terjadi melalui lintasan asam asetat-malonat yang dimulai dari pembentukan asam piruvat. Menurut Carels dan Shepherd (1997) dalam Deanne (1994: 5), bila nitrogen yang terdapat dalam substrat habis maka hasil glikolisis dialihkan untuk membentuk metabolit sekunder. Asam piruvat yang dihasilkan kemudian mengalami dekarboksilasi oksidatif dengan bantuan enzim piruvat dehidrogenase dan koenzim A akan membentuk unit-unit malonil koenzim. Asetil koA dan malonil koA kemudian membentuk gugus polipeptida yang dapat digunakan untuk pembentukan pigmen (Turner, 1971: 77).

Menurut Plato dalam Deanne (1994: 10) bahwa perkembangan kapang secara aseksual ditandai dengan pembentukan konidiofora yang muncul dari miselium yang terendam dalam medium. Fenomena yang tidak umum terjadi pada kapang jenis *Monascus* adalah ekstrusi cairan granular melalui ujung hifa. Menurut Yuan (1980: 157), hasil ekstrusi cairan bersatu pada ujung hifa dan membentuk cairan seperti getah yang tidak beraturan bentuknya. Cairan ini kemudian pecah dan menyebarkan pertikel-pertikel bulat kecil ke ujung hifa. (Hesseltine dalam Deanne 194: 5) menambahkan ketika kultur masih muda cairan ekstrusinya tidak berwarna, tetapi lama-kelamaan berubah menjadi kemerahan, kuning, merah atau jingga jika kultur ditumbuhkan pada PDA (Patato

Dextrosa Agar) atau agar Sabouraud. Zat warna ini paling cepat tampak setelah pertumbuhan 40-48 jam. Zat warna merah yang dihasilkan tidak hanya dapat diamati pada kandungan bagian dalam hifa tetapi dapat berdifusi menembus bagian dalam substrat.

Angkak adalah beras merah China. Pembuatan angkak pertama kali di China adalah pada Dinasti Ming. Angkak dibuat melalui proses fermentasi beras dengan kapang *Monascus purpureus*. Sering digunakan sebagai obat dan bahan pangan.

Senyawa obat yang terdapat di dalam angkak sesungguhnya merupakan produk metabolit sekunder dari kapang *Monascus purpureus*, yaitu lovastatin. Kadar lovastatin pada angkak sekitar 0,2 persen. Lovastatin (C₂₄H₃₆O₅) atau mevacor atau monacolin K telah dikenal sebagai senyawa obat yang dapat menurunkan kadar kolesterol darah pada penderita hiperkolesterolemia (Anonim, 2008: 1).

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 dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada hati. Rodamin B merupakan zat warna sintesis berbentuk serbuk kristal, tidak berbau, berwarna merah keunguan, dalam bentuk larutan berwarna merah terang berpendar (berfluorescensi).

Rodamin B seringkali disalah gunakan untuk pewarna pangan dan kosmetik, misalnya : sirup, lipstik, dll. Paparan Rodamin B dalam waktu yang lama (kronis) dapat menyebabkan gangguan fungsi hati / kanker hati. Rodamin B biasanya terdapat pada lipstik yang berwarna merah mencolok, lipstik yang water proof (tahan air), blush on (pemerah pipi), dll (Anonim, 2009: 1).

1. Tanaman Kelapa

Kelapa (*Cocos nucifera* L.) termasuk tumbuhan berkeping satu (monocotyledonae) dan berakar serabut dari golongan palem (palmae) (Warisno, 2000: 9). Batang kelapa mengarah lurus ke atas dan tidak bercabang. Tinggi batang bisa mencapai 30 m dengan garis tengah 20-30 cm, tergantung iklim, tanah dan lingkungan lahan. Daun kelapa bertulang sejajar memiliki pelepah daun dengan anak daun pada sisi kiri dan kanannya. Tajuk daun terdiri dari 20-30 buah, pada pohon yang sudah dewasa panjang tajuk daun mencapai kurang lebih 5-8 m. daun yang mudah tumbuhnya tegak, makin besar dan makin tua semakin condong akhirnya terkulai dan berguguran. Tanaman kelapa disebut juga tanaman berumah satu karena mempunyai bunga jantan dan bunga betina dalam satu pohon (Suhardiman dalam Sarpenni, 2007: 6).

Bunga betina tanaman kelapa akan dibuahi 18-25 hari setelah bunga berkembang dan buah akan menjadi masak setelah 12 bulan. Buah kelapa berbentuk bulat panjang dengan ukuran kurang lebih sebesar kepala manusia. Komposisi buah kelapa terdiri dari sabut (eksokarp dan mesokarp) dengan jumlah 35%, tempurung (endokarp) 12%, daging buah (endosperm) 28%, dan air buah 25%. Tebal sabut kelapa kurang lebih 5 cm dan tebal daging buah 1 cm atau lebih (Ketaren, 1986: 298).

Pada mulanya hanya ada dua varietas kelapa yang diketahui, yaitu kelapa varietas dalam dan varietas genjah. Kelapa varietas dalam berbatang tinggi dan besar, tingginya mencapai 30 m atau lebih dan berbuah agak lambat yaitu antara 6-8 setahun setelah tanam, dan umumnya dapat mencapai 100 tahun lebih. Sedangkan tanaman kelapa varietas genjah berbatang ramping, tinggi batang mencapai 5 m atau lebih, masa berbuah 3-4 tahun setelah tanam, dan dapat mencapai umur 50 tahun. Dengan berkembangnya ilmu pemuliaan tanaman, maka muncul lagi varietas baru, yaitu kelapa hibrida yang merupakan hasil persilangan antara varietas genjah dengan varietas dalam (palungkun, 2004: 13).

Dalam sistematika, tumbuhan kelapa diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Palmales
Famili : Palmae
Genus : Cocos
Spesies : *Cocos nucifera* L.

(Tjitrosopomo, 2000: 456-460).

Daging buah kelapa berwarna putih, lunak dan tebalnya 8-10 mm. Daging buah kelapa yang sudah matang dapat dijadikan kopra, minyak kelapa, dan bahan makanan lainnya. Daging buah ini merupakan sumber protein penting dan mudah dicerna terutama pada kelapa yang setengah tua. Sedangkan kandungan kalornya mencapai maksimal ketika buah sudah tua. Demikian pula dengan vitamin A dan thiaminnya didapat ketika buah setengah tua (Palungun, 2003: 21). Jadi komposisi kimia daging buah kelapa ditentuka oleh umur buah.pada tabel 2 dapat dilihat komposisi kimia daging buah kelapa pada berbagai tingkat kematangan.

Virgin Coconut Oil

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).

Minyak kelapa murni atau Virgin Coconut Oil (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 alurat 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 kkekebalan mikroba. Hal ini akan membuat mikroba menjadi tidak aktif (Nur, dalam Naldes, 2008).

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen.

B. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2010 sampai bulan April 2011 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

C. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah panci, spektrofotometer UV, tabung reaksi, gelas ukur, jarum ose, timbangan, Erlenmeyer, autoklav, kompor listrik, oven listrik, pipet tetes, vorteks, beaker glass, batang pengaduk, corong pemisah.

Bahan yang digunakan adalah kelapa tua, *Saccharomyces cerevisiae*, *Monascus purpureus*, aquades, sukrosa, agar-agar, alkohol, medium PDA, 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*

Ditimbang 1 gr sukrosa dan 0,2 gr agar-agar lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambah dengan aquades sampai dengan volume 100 ml. tutup Erlenmeyer dengan kapas dan dibungkus dengan aluminium foil. Terakhir dilakukan sterilisasi dengan autoklav pada temperatur 121⁰C pada tekanan 15 psi selama 15 menit.

2. Pembuatan Medium PDA (Patato Dextrosa Agar) Instan

Ditimbang PDA instan sebanyak 39 gr, lalu dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan aquades sampai mencapai volume 1000 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. Skil digunakan untuk sustrat starter dan krim dibutuhkan sebagai bahan fermentasi.

4. Pembuatan Starter *Saccharomyces cerevisiae*

Sebanyak 35 ml skim kelapa dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml. Selanjutnya, secara aseptik masukkan 1 ose steril biakan *Saccharomyces cerevisiae* yang ditambah dengan 3,5 aquades, lalu tutup erlenmeyer 50 ml dengan aluminium foil dan inkubasi selama 2 jam, kemudian masukkan ke dalam krim kelapa.

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*

Medium starter adalah limbah tahu sebanyak 100 ml yang ditambah tepung beras sebanyak 4%. Sebagai sumber nitrogen dan mineral yang digunakan adalah NH_4NO_3 0,15%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,10% dan KH_2PO_4 0,25%, lalu diatur pHnya 6, selanjutnya disterilisasi dengan autoklav pada suhu 121°C , selama 20 menit. Setelah dingin, spora kapang yang telah diinkubasi selama 7 hari diinokulasikan dan diinkubasi lagi selama 7 hari (Ridawati, 1993).

2. Pelaksanaan Penelitian

- Media fermentasi yang digunakan adalah ekstrak beras, ampas tahu, dedak padi. Ekstrak beras, ampas tahu dan dedak padi dibuat dengan dengan komposisi 5% (b/v) tepung beras, tepung beras : ampas tahu (1:1) kemudian dididihkan pada suhu 100°C selama 30 menit dan disaring. Tepung ampas tahu dan dedak padi dibuat dengan mengeringkan ampas tahu dan dedak padi dalam oven pada suhu 60°C selama 2 hari, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Pembuatan tepung beras dilakukan dengan cara mencuci beras kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 60°C selama 1 hari dan dihaluskan.
- Kultur kerja media pada agar miring, diambil 3 ose dan dicampurkan dengan 10 ml aquades steril kemudian dimasukkan pada media fermentasi yang sudah dipersiapkan kemudian diinkubasi sesuai dengan perlakuan kompleks *M. purpureus* dan *Saccharomyces cerevisiae*
- Media fermentasi dinetralkan dengan menambahkan 1M NaOH sebanyak kurang lebih 25 mL tiap 1L.

3. Pengamatan

Ada 2 Pengamatan Dilakukan:

- Intensitas warna merah terhadap absorbansi pigmen merah yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan Spektrofotometer UV. Kultur yang telah ditumbuhkan dipanen dengan cara disaring, lalu supernatan yang diperoleh di sentrifuse selama 15 menit. Untuk mengetahui konsentrasi pigmen merah absorbansi supernatan diamati pada panjang gelombang 500 nm (A500).

2. Kadar Asam Lemak Bebas (AOAC dalam Danti, 2007: 19)
Minyak yang akan diuji ditimbang 7,05 gram di dalam Erlenmeyer 200 ml. ditambahkan 50 ml alcohol 95%, kemudian 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 permanent. Setelah itu dihitung jumlah milliliter KON 0,1 N yang digunakan untuk menetralkan asam lemak bebas dalam 1 gram minyak.

$$\text{Kadar Asam (\%)} = \frac{M \times A \times N}{10G}$$

Keterangan:

M = 205 (bobot molekul asam lemak minyak kelapa)

A = Jumlah ml KON untuk titrasi

N = normalitas larutan KOH

G = berat sampel (gr)

I. Analilsis Data

Data dianalisis dengan analisis ragam atau ANOVA. Jika hasilnya menunjukkan perbedaan yang nyata, dilakukan uji lanjut.

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 2009.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis of The Assosiation of Official Analytical Chemistry Inc.* Arlington: Virginia.
- Danti, Y. R. 2007. Jumlah dan Mutu Minyak Kelapa Ahsil Fermentasi Oleh Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* Pada Waktu Inkubasi Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang: Padang.
- Deanne. 1994. Produksi Pigmen Angkak Oleh *Monascus purpureus* Pada Campuran Limbah Tahu, Ampas Tahu dan Dedak *Skripsi SI*. Fakultas Teknologi Pertanian IPB: Bogor.

- Jenie, dkk. 1994. Produksi Angkak Oleh *Monascus purpureus* Dalam Medium Limbah Cair Tapioka, Ampas Tapioka dan Ampas Tahu. *Bulletin teknologi dan Industri Pangan*. 5 (3): 60-64.
- Kasim, dkk. 2005. Karakteristik Pigmen dan Kadar Lovastatin Beberapa Isolat *Monascus purpureus*. *Biodiversitas* 7 (1).
- Kasim, dkk. 2006. Kandungan Pigmen dan Lovastatin pada Angkak Baras merah Kultivar Bah Butong dan BP 1804 IF 9 yang Difermentasi dengan *Monascus purpureus*. *Biodiversitas* 6 (4).
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Universitas Indonesia Press: Jakarta.
- Naldes, S. 2008. Penentuan Aktivitas Anti Bakteri Virgin Coconut Oil (VCO) Hasil Ekstraksi dari Kelapa Hijau (*Cocos nucifera* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang: Padang.
- Nur, A. 2005. *Virgin Coconut Oil: Minyak Penakluk Aneka Penyakit*. Agromedia pustaka: Jakarta.
- Palungkun, R. 2004. *Aneka Produk Olahan Kelapa*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Putri, L. W. 2007. Pengaruh Pemberian Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Kadar High Density Lipoprotein (HDL) Pada Serum Darah Mencit Putih (*Mus musculus*). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang: Padang.
- Sakidja. 1989. *Kimia Pangan*. Depdikbud: Jakarta.
- Sarpenni, M. 2007. Kemampuan Minyak Kelapa Murni Dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur Patogen. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang: Padang.
- Sarun, K. 1998. Pengaruh Penggunaan Asam Asetat (CH₃COOH)/ Asam Cuka Terhadap Mutu Minyak Kelapa. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang: Padang.
- Suardi, dkk. 2007. *Pengaruh Virgin Coconut Oil (VCO) Terhadap Liberasi Salep Kalium Iodida*. Fakultas Farmasi UNAND: Padang.
- Sutarmi. 2005. *Takluk Penyakit dengan VCO*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Taringan, J. 1998. *Pengantar Mikrobiologi*. Depdikbud: Jakarta.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Turner, W. B. 1971. *Fungal Metabolites*. Academic Press: London.
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.
- Volk & Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar Jilid 2*. Erlangga: Jakarta.

