

**PENGARUH JUMLAH STARTER DAN WAKTU FERMENTASI TERHADAP
PIGMENT YANG DIHASILKAN OLEH *Monascus purpureus*
PADA LIMBAH UBI KAYU (*Manihot utilisima*)**

Irdawati

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang

ABSTRACT

The aim of this research is to find out the effect of adding starter and longecity of fermentation to pigmen of Monascus purpureus product at waste of cassava. This research used experimental methods with RAL factorial two factor. Factor A, number of starter and factor B longecity of fermentation. The result of this research was adding stater and longecity of fermentation means given effect to pigmen of Monascus purpureus product from cassava waste.

Keywords: *Monascus purpureus, Manihot utilisima*

PENDAHULUAN

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).

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 Sabouraud. 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).

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 Sherpherd (1978) dalam Ridawati (1993), bila nitrogen yang terdapat dalam substrat habis, maka hasil dari glikolisis dialihkan untuk membentuk metabolit sekunder. Asam piruvat dari lintasan HDP (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. Mevinolin dan lovastatin adalah dua komponen bioaktif yang diketahui terdapat di dalam angkak dan berfungsi menurunkan kolesterol di dalam darah.

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 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*.

Berdasarkan penelitian Badan Pengawasan Obat dan Makanan bahwa dari 163 sampel jajanan anak yang diuji di 10 provinsi 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) (Awan, 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 mikroba maupun terhadap kondisi pertumbuhan mikroba tersebut. Karena itu konsentrasi inokulum awal atau stater 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

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen. Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Desember 2008 sampai Januari 2009 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pegetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV, tabung reaksi, lampu spritus, mikro pipet, gelas ukur, jarum ose, erlenmeyer, botol slai, autoklave, kompor listrik, oven listrik, pipet tetes, vorteks, beker glass, timbangan analitis, sentrifuse, batang pengaduk, kertas saring, aluminium foil, corong pemisah, dan kain kassa.

Bahan yang digunakan adalah kulit ubi kayu, tepung beras, NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, biakan murni *M. purpureus*, aquades, alkohol, spritus, Potato Dextro Agar (PDA).

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 lalu disaring, 4 ml sari pati dicampur dengan 96 ml akuades dan ditambah 0,15% NH_4NO_3 (Jennie, dkk, 1994).

Penyediaan Biakan Murni *M. purpureus*

Biakan murni *M. purpureus* diperoleh dari jurusan Teknik Kimia Institut Teknologi Bandung (ITB). Untuk perbanyakannya, satu ose biakan murni *M. purpureus* diinokulasikan agar miring yang berisi medium Potato Dextrosa Agar (PDA), dan di inkubasi selama 5 hari. Medium PDA instan dibuat dengan cara menimbang PDA sebanyak 20 gram dan masing-masing dimasukkan ke dalam beker glass yang berbeda lalu ditambahkan aquades sampai volumenya 1000 ml, dipanaskan sampai mendidih dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Terakhir disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C pada tekanan 15 psi selama 15 menit.

Pembuatan Stater *M. Purpureus*

Kulit ubi kayu di bersihkan dari kulit terluarnya, kemudian diblender dan di ambil cairan sari patinya dengan cara menyaringnya dengan kain kassa. Kemudian ke dalam 100 ml sari pati kulit ubi kayu ditambahkan tepung beras 4%, NH_4NO_3 0,15%, KH_2PO_4 0,25% dan terakhir ditambahkan 0,10% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, lalu diatur pHnya sampai 6, selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C , selama 20 menit. Setelah dingin, spora kapang yang telah diinkubasi selama 7 hari diinokulasikan dan di inkubasi lagi selama 7 hari (Ridawati, 1993).

Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap

(RAL) berpola faktorial dengan 2 faktor dan 3 ulangan.

Perlakuan adalah sebagai berikut :

Faktor A : Jumlah Starter

A0. Tanpa pemberian starter

A1. Jumlah starter 6% (v/v)

A2. Jumlah starter 8% (v/v)

A3. Jumlah starter 10% (v/v)

A4. Jumlah starter 12% (v/v)

A5. Jumlah starter 14% (v/v)

Faktor B : Waktu Fermentasi

B0. Waktu fermentasi 9 hari

B1. Waktu fermentasi 11 hari

B2. Waktu fermentasi 13 hari

B3. Waktu fermentasi 15 hari

B4. Waktu fermentasi 17 hari

Pelaksanaan Penelitian

Media fermentasi berupa sari pati kulit ubi kayu dipanaskan selama 15 menit pada suhu 100⁰C. Setelah media tersebut dingin, dimasukkan kedalam botol slai sebanyak 50 ml, kemudian ditambahkan starter sesuai dengan perlakuan dan diinkubasi juga sesuai dengan waktu inkubasi perlakuan yang telah ditentukan.

Pengamatan dilakukan terhadap absorbansi pigmen merah yang dihasilkan pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan spektrofotometer UV. Kultur yang telah ditumbuhkan dipanen dengan cara disaring, lalu supernatant yang

diperoleh di sentrifuse selama 15 menit. Untuk mengetahui konsentrasi pigmen merah absorbansi supernatant diamati pada panjang gelombang 500 nm (A500).

Analisis Data

Data di analisis dengan analisis ragam atau ANOVA. Jika hasilnya menunjukkan perbedaan yang nyata, dilakukan uji lanjut Duncan Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis data mengenai pengaruh jumlah starter dan waktu fermentasi terhadap pigmen yang dihasilkan oleh *M. purpureus*. Pada limbah ubi kayu terdapat perbedaan yang nyata. Rata-rata absorbansi pigmen merah *M. purpureus* pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Dari tabel analisis sidik ragam diperoleh faktor AB (interaksi) $F_{hitung} = 211.65$ dan $F_{tabel} = 1.75$ pada taraf signifikan 5%. Disini jelas terlihat bahwa faktor AB nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ini menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara faktor A dan faktor B dan masing-masing faktor menunjukkan perbedaan yang nyata dalam menunjukkan intensitas pigmen.

Tabel 1. Rata-rata intensitas pigmen merah pada faktor interaksi AB

Faktor B (lama fermentasi)	Faktor A (jumlah starter)					
	A ₄	A ₃	A ₁	A ₂	A ₅	A ₀
B ₁	4.012 a	3.477 c	0.350 op	1.347 g	0.437 o	0.258 p
B ₃	3.636 b	0.718 ij	1.941 e	0.892 h	0.119 p	0.105 p
B ₄	0.480 mn	0.447 no	2.599 d	1.451 fg	0.551 lm	0.218 p
B ₂	0.961 h	1.251 g	0.595 kl	1.548 f	0.454 n	0.183 p
B ₀	0.276 p	0.640 k	0.710 jk	0.726 hi	0.313 p	0.328 p

Ket: angka-angka yang diikuti pada jalur huruf besar dan huruf kecil yang sama adalah tidak berbeda nyata pada taraf signifikan 5%

Hasil uji lanjut interaksi antara jumlah starter dengan waktu fermentasi (interaksi faktor AB) menunjukkan perbedaan yang nyata pada beberapa interaksinya. Nilai absorbansi tertinggi diperoleh pada saat

jumlah starter 12% dan waktu fermentasi 11 hari (A₄B₁) yaitu sebesar 4.012. Sedangkan nilai absorbansi pigmen terendah diperoleh pada saat jumlah starter

0 (tanpa pemberian starter) dan waktu fermentasi 15 hari (A_0B_3) yaitu 0.105.

Interaksi antara faktor A dan faktor B memberi pengaruh yang nyata terhadap produksi pigmen merah *M. purpureus*. Pada interaksi ini nilai absorbansi tertinggi adalah pada faktor A_4B_1 yaitu sebesar 4.012 hal ini sesuai dengan data yang diperoleh sebelumnya, bahwa nilai absorbansi tertinggi untuk faktor A (jumlah starter) adalah faktor A_4 (jumlah starter 12%) dan nilai absorbansi tertinggi untuk faktor B (waktu fermentasi) adalah faktor B_1 (waktu fermentasi 11 hari). Dimana, pada jumlah starter 12% dan lama fermentasi 11 hari adalah kondisi yang optimum bagi *M. purpureus* dalam menghasilkan pigmen warna merah.

Apabila jumlah starter yang diberikan pada media kurang akan menyebabkan produksi pigmen tidak maksimum karena jumlah mikroba yang ada dalam medium tidak mencukupi dalam menghasilkan pigmen merah tersebut. Sebaliknya, apabila jumlah starter yang ditambahkan ke dalam media lebih atau terlalu banyak juga akan menyebabkan produksi pigmen tidak maksimum karena dengan banyaknya starter menyebabkan mikroba yang terdapat dalam media semakin banyak dan akan terjadi perebutan nutrisi dalam medium tersebut. Sebagaimana dikemukakan Reed dalam Irawati (2007) bahwa jumlah starter yang tepat akan memberikan hasil yang baik dalam proses fermentasi.

Lama fermentasi 11 hari merupakan fase stasioner atau fase pertumbuhan yang tetap dimana kadar pigmen baru dihasilkan dalam jumlah yang maksimal oleh *M. purpureus* pada medium kulit ubi kayu. Pigmen merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan terutama pada fase stasioner. Sebagaimana yang dikemukakan Fardiaz (1988) bahwa metabolit sekunder 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.

Frazier dan Westhoff (1978: 149) menambahkan bahwa produk suatu fermentasi sangat tergantung pada jumlah starter, lama fermentasi, substrat, enzim, suhu, pH, dan kandungan gula yang digunakan.

Kadar pigmen merah semakin tinggi dengan semakin lamanya fermentasi sampai lama fermentasi tertentu, selanjutnya mengalami penurunan atau relatif stabil. Ini terlihat pada tabel dimana pada waktu fermentasi 9 hari absorbansi pigmen masih rendah selanjutnya meningkat tajam pada waktu fermentasi 11 hari, pada waktu fermentasi 13, 15 dan 17 hari absorbansi pigmen menurun atau relatif stabil. Sebagaimana dikemukakan Ridawati (1993: 49) bahwa, kadar pigmen semakin meningkat dengan meningkatnya waktu fermentasi sampai waktu fermentasi tertentu.

Berdasarkan hasil uji lanjut diketahui bahwa absorbansi terendah dari interaksi antara faktor utama A dengan faktor utama B adalah pada perlakuan A_0B_3 yaitu pada tanpa penambahan starter dan lama fermentasi 15 hari yaitu sebesar 0.105. Hal ini terjadi diduga karena tidak diberikannya starter pada media fermentasi dan juga lamanya waktu fermentasi yang diberikan. Penambahan starter ini bertujuan untuk memacu terjadinya proses fermentasi dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang lain selain *M. purpureus* dalam media tersebut.

Terjadinya penurunan absorbansi pigmen setelah hari ke-11 diduga karena jumlah nutrisi yang cocok bagi *M. purpureus* sudah habis atau terjadi dekomposisi pigmen dan perubahan struktur, sehingga terjadi pemucatan pigmen. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kerusakan gugus kromofor atau gugus fungsional zat warna tersebut karena teroksidasi dan waktu fermentasi yang terlalu lama. Sebagaimana dikemukakan oleh Sutrisno dalam Deanne (1993: 38) bahwa, selama fermentasi produksi pigmen merah yang dinyatakan dalam intensitas

warna terus meningkat sampai pada waktu fermentasi tertentu kemudian menurun, hal ini disebabkan oleh terjadinya kerusakan gugus kromofor pigmen yaitu perubahan-perubahan ikatan atau gugus-gugus fungsionalnya. Sudarsono (1990: 30) menambahkan bahwa dekomposisi pigmen atau perubahan struktur yang akan menyebabkan terjadinya pemucatan pigmen, terjadi jika jumlah nutrisi yang tersedia bagi *M. purpureus* sudah habis.

KESIMPULAN

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

1. Jumlah starter dan waktu fermentasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap pigmen merah yang dihasilkan oleh *M. purpureus* pada limbah kulit ubi kayu.
2. Terdapat interaksi antara jumlah starter dan waktu fermentasi terhadap pigmen yang dihasilkan oleh *M. purpureus* pada limbah kulit ubi kayu.
3. Intensitas maksimum yang dihasilkan oleh *M. purpureus* pada limbah kulit ubi kayu adalah pada perlakuan A₄B₁ (pada jumlah starter 12% dan waktu fermentasi 11 hari) yaitu sebesar 4.012.

DAFTAR PUSTAKA

- Awan, S. (2002). **Bahan Tambahan Makanan yang Berbahaya**. (Dari: <http://www.republika.co.id>)
- Astawan, M. (2008). **Gaya Hidup Sehat**. (Dari: <http://www.kompas.com>. Diakses tanggal 15 Februari 2008).
- Deanne. (1993). **Produksi Pigmen Angkak Oleh *Monascus purpureus* Pada Campuran Limbah Tahu, Ampas Tahu dan Dedak**. *Skripsi S1*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Fardiaz, S. (1988). **Fisiologi Fermentasi**. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.
- Fraizier, C.W. dan D.C. Westhoff. (1978). **Food Microbiology**. New Delhi: McGraw Hill. Publishing Company Limited.
- Irdawati, E. (2007). **Pengaruh Jumlah Starter dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol dari Limbah Buah Nenas (*Ananas comosus* (L). Nerr)**. *Skripsi S1*, Padang: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNP.
- Jenie, dkk. (1997). **Produksi Angkak oleh *M. purpureus* dalam Medium Limbah cair tapioka, onggok, dan Limbah Padat tahu**. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 5 (3): 60-64.
- Ridawati. (1993). **Produksi Pigmen oleh *M. purpureus* pada media Campuran Limbah Cair Tapioka, ampas tapioca dan Ampas Tahu**. *Skripsi S1*, IPB Bandung.
- Sudarsono, A. (1990). **Mempelajari Produksi Zat Warna Alami Angkak engan Substrat Fermentasi Ampas Tapioka (Onggok) Oleh *Monascus purpureus* Went**. *Skripsi S1*, Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Timotius dan Hartani. (1998). **Pertumbuhan dan Produksi Pigmen oleh *M. purpureus* dalam Medium Air rendaman Kedelai**. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 9 (1).