

Produksi Pigmen Merah *Monascus* sp. pada Substrat Tepung Biji Durian (*Durio zibethinus* Murr.) dan Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) dengan Variasi Penambahan Sumber Nitrogen

Tsanya Dyna Falasifa, Agung Suprihadi¹, Sri Pujiyanto¹

1. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang,
Semarang 50275 Telepon (024)7474754; Fax. (024)76480690
email: tsanya.dyna@gmail.com

ABSTRACT

Public awareness about the danger of using synthetic dyes impact on health for a long term, pushes the demand of natural dye that is healthier. One of the natural dye is *Monascus* sp. red pigment which traditionally uses the rice substrate. Durian seed and jackfruit seed are residue from agroindustry which still have high nutritional value thus potentially become the alternative substrate. The aim of this study was to measured *Monascus* sp. red pigment production in the flour substrate of durian seed and jackfruit seed with variant nitrogen source added. This research used completely randomized design (CRD) factorial with 2 factors. The first factor was a kind of substrate fermentation (N): jackfruit seed flour and (D): durian seed flour. The second factor was concentration peptone added (P₀): 0%, (P₁): 1%, (P₂): 2%, and (P₃): 3%. Research consist of 8 treatments with 3 replications. Research parameters were red pigment concentration and biomass estimation. Analysis of the data used Analysis of Variance (ANOVA) followed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at the 95% significance level and Pearson correlation test. The result showed that *Monascus* sp. can grow and produced red pigment on both of substrate with the addition of a nitrogen source variation. Fermentation on the jackfruit seed flour substrate with 2% peptone added was the most effective in red pigment production with 5,55 CVU/gds. The addition of 2% peptone on both types of substrate yielded highest biomass with 1.53 mg/gds, and there was a positive correlation between the biomass and the red pigment production.

Keywords: Pigment, Monascus sp., Durio zibethinus, Artocarpus heterophyllus, nitrogen

ABSTRAK

Kesadaran masyarakat tentang bahaya penggunaan pewarna sintetik terhadap kesehatan dalam jangka panjang, mendorong permintaan pewarna alami yang lebih aman. Pewarna alami salah satunya dapat berupa pigmen merah *Monascus* sp. yang secara tradisional menggunakan substrat beras. Biji nangka dan biji durian merupakan residu agroindustri yang masih memiliki nilai nutrisi cukup tinggi, sehingga berpotensi sebagai substrat alternatif. Tujuan penelitian ini adalah mengukur produksi pigmen merah *Monascus* sp. pada substrat tepung biji durian dan biji nangka dengan variasi penambahan sumber nitrogen. Penelitian menggunakan RAL pola faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama adalah jenis substrat fermentasi (N): tepung biji nangka dan (D): tepung biji durian. Faktor kedua yaitu konsentrasi penambahan pepton (P₀): 0%, (P₁): 1%, (P₂): 2%, dan (P₃): 3%. Penelitian terdiri 8 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Parameter penelitian meliputi konsentrasi pigmen merah dan estimasi biomassa. Analisis data menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikan 95% dan uji korelasi Pearson. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Monascus* sp. dapat tumbuh dan memproduksi pigmen merah pada kedua substrat tersebut dengan variasi penambahan sumber nitrogen. Fermentasi pada substrat tepung biji nangka dengan penambahan pepton 2% paling efektif dalam produksi pigmen merah yaitu 5,55 CVU/gds. Penambahan pepton 2% pada kedua jenis substrat menghasilkan biomassa paling tinggi yaitu 1,53 mg/gds, serta terdapat korelasi positif antara biomassa dan produksi pigmen merah.

Kata kunci: Pigmen, Monascus sp., Durio zibethinus, Artocarpus heterophyllus, nitrogen

PENDAHULUAN

Berkembangnya industri pangan (makanan dan minuman) dan non pangan (kosmetika dan farmasi) menyebabkan kebutuhan pewarna semakin meningkat. Pewarna produk pangan dan farmasi menjadi salah satu bagian terpenting, karena menjadi salah satu faktor penentu dalam penerimaan dan penilaian suatu produk di masyarakat. Sebagai contoh warna diasosiasikan dengan tingkat kualitas dan penilaian pertama oleh konsumen pada industri makanan.

Pewarna alami atau biopigmen dapat bersumber dari tumbuhan, hewan, dan mikroba. Pewarna alami selain sebagai pewarna yang aman digunakan, pada umumnya juga memiliki kemampuan antikanker; mengandung pro-vitamin A; stabil terhadap cahaya, panas, dan pH (Muthuselvam *et al.*, 2009). Ketertarikan terhadap pigmen yang diproduksi mikroba disebabkan karena pengkulturan mikroba relatif mudah, dapat menggunakan medium sederhana dan murah, sifat alami yang dimiliki aman, produksi tidak mengenal musim dan kondisi geografis, serta hasil yang dapat dikontrol dan diprediksi (Muthuselvam *et al.*, 2009; Bhat *et al.*, 2013). Pigmen dari mikroba seringkali lebih stabil serta lebih bersifat larut jika dibandingkan dengan pigmen yang berasal dari tumbuhan dan hewan (Gunasekaran & Poorniammal, 2008).

Salah satu contoh pigmen dari mikroba dapat menghasilkan angkak. Angkak adalah produk fermentasi beras oleh kapang *Monascus* sp. Keuntungan penggunaan angkak antara lain tidak mengandung racun dan tidak karsinogenik. Angkak telah lama digunakan sebagai pewarna makanan di negara-negara Asia seperti China, Indonesia, Jepang dan Filipina. Umumnya angkak digunakan sebagai menu diet, makanan pelengkap, dan mewarnai berbagai produk makanan seperti produk ikan, keju, kedelai, piket sayuran, daging asin, anggur, dan minuman beralkohol lainnya (Muharni *et al.*, 2013; Shi *et al.*, 2011).

Pigmen *Monascus* sp. diproduksi secara tradisional pada substrat padat, seperti beras atau jagung yang dikeringkan, ditumbuk, dan dicampurkan pada makanan langsung. Produksi pigmen pada substrat padat dalam skala besar memerlukan banyak tempat fermentasi, sehingga menjadi salah satu kelemahan (Timotius, 2004). Fermentasi padat memiliki kelebihan dapat

mengeksplorasi bahan-bahan alam yang selama ini menjadi limbah agroindustri dan masih memiliki kandungan nutrisi sebagai pengganti media fermentasi sintetik, sehingga dapat menekan biaya produksi pigmen (Babitha *et al.*, 2006). Beras merupakan salah satu makanan pokok di Indonesia dan memiliki nilai jual yang tinggi, oleh karena itu perlu dieksplorasi bahan alternatif sebagai pengganti substrat, salah satunya adalah menggunakan hasil sisa pertanian seperti biji durian dan biji nangka.

Durian (*Durio zibethinus* Murr.) menghasilkan biji sebagai salah satu residu agroindustri yang biasanya dibuang. Produksi durian di Indonesia pada tahun 2012 mencapai 888.130 ton (Badan Pusat Statistik, 2012). Biji yang dihasilkan mencapai 5-15% dari total berat buah. Menurut Brown dalam Srianta, *et al.* (2012), 100 gram biji durian segar mengandung karbohidrat (43,6%) dan protein (2,6%). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan potensi biji durian sebagai media produksi pigmen *Monascus* sp. KJR2 (Kusumawati & Srianta, 2011).

Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) adalah buah yang terkenal dan tersebar di negara tropis termasuk Indonesia. Produksi nangka di Indonesia pada tahun 2012 mencapai 663.936 ton (Badan Pusat Statistik, 2012). Setiap buah nangka dapat menghasilkan 100 sampai 300 biji buah. Biji yang dihasilkan tersebut mencapai 10 sampai 15% massa total buah dan masih mengandung karbohidrat dan protein yang cukup tinggi, tetapi biasanya dibuang atau dikukus untuk dijadikan makanan camilan lokal (Babitha, 2006). Menurut Sari (2012), tepung biji nangka memiliki kandungan protein (11,58%), karbohidrat (71,08%), lemak (0,75%), dan kalori (337,41%). Penggunaan biji nangka disertai penambahan *yeast extract* sebagai sumber nitrogen dapat menghasilkan produksi pigmen maksimal (Subhasree *et al.*, 2011).

Pigmen sebagai salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang, proses produksinya dipengaruhi beberapa faktor. Produksi pigmen dipengaruhi oleh faktor fisik seperti suhu, pH, dan salinitas medium kultur (Bhat *et al.*, 2013). Karbon, nitrogen, vitamin, mineral dan faktor lingkungan seperti pH, oksigen, kelembaban, dan suhu juga mempengaruhi pertumbuhan kapang (Timotius, 2004).

Melihat ketertarikan dan kebutuhan pigmen alami yang meningkat dan peluang pemanfaatan residu agroindustri, maka perlu dilakukan penelitian mengenai produksi pigmen merah *Monascus* sp. pada substrat tepung biji durian (*D. zibethinus* Murr.) dan biji nangka (*A. heterophyllus* Lam.) dengan variasi penambahan sumber nitrogen.

METODOLOGI

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang. Analisis Proksimat dilakukan di Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Jurusan Peternakan Fakultas Pertanian & Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang. Waktu penelitian dilakukan dari bulan Maret sampai Juni 2014.

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah kapang *Monascus* sp. (koleksi Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi UNDIP), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), biji durian (*Durio zibethinus* Murr.), biji nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.), KH_2PO_4 , NH_4NO_3 , NaCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, pepton 1%, pepton 2%, pepton 3%, NaOH 1M, HCL 1M, etanol 70%, etanol 90%, H_2SO_4 , asetil aseton, reagen Ehrlich, aquades steril, spritus, kertas saring, dan N-asetil glukosamin.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu autoklaf, botol vial 250 mL, bunsen, bunsen, *hot plate*, cawan petri, gelas beker, tabung reaksi, batang pengaduk, sumbat kasa, mikropipet, tip mikropipet skala 100-1000 μL , pipet tetes, gelas ukur, haemositometer, *hand counter*, cuvet, spektrofotometer, oven, inkubator, *rotary shaker*, neraca analitik, ayakan, *stopwatch*, label, ose, mikroskop, pisau, dan loyang.

Cara Kerja

Peremajaan Kapang

Medium disiapkan dengan cara 39 gram PDA dilarutkan dalam aquades 1000 mL. Bahan tersebut dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* dan diaduk sampai homogen. Medium disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi. Medium tersebut dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 8—10 mL dan tabung reaksi sebanyak 3—5 mL, kemudian didiamkan sampai memadat. Media

tersebut dibiarkan selama 24 jam pada suhu kamar sebelum digunakan sebagai medium peremajaan kapang.

Kultur stok *Monascus* sp. diremajakan pada medium PDA dalam cawan petri dan medium PDA miring pada tabung reaksi, kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C . *Monascus* sp. dalam tabung reaksi disimpan di lemari pendingin sebagai kultur stok untuk penelitian selanjutnya.

Persiapan Perhitungan Spora (Babitha *et al.*, 2006)

Biakan *Monascus* sp. diinokulasi ke dalam medium PDA miring steril dalam tabung reaksi, setelah itu diinkubasi pada suhu 30°C selama 8 hari. Aquades steril sebanyak 10 mL ditambahkan ke dalam kultur kapang pada akhir inkubasi, kemudian spora dilepaskan dengan cara digosok permukaan kultur menggunakan ose dan dipindahkan secara aseptis ke dalam erlenmeyer 50 mL steril untuk dijadikan suspensi spora. Suspensi dihomogenkan dengan cara digoyang. Inokulum yang digunakan mencapai kepadatan 10^5 spora/mL.

Perhitungan Kerapatan Spora

Suspensi spora dimasukkan ke dalam lekukan gelas benda haemositometer dengan pipet dan dibiarkan sampai memenuhi ruang hitung. Diamati dengan mikroskop pada perbesaran 400 kali dan dihitung jumlah spora yang terdapat pada 80 kotak kecil yang terletak di dalam kotak tengah yang berukuran 1 mm^2 (Lay dan Haswoto, 1992).

Kerapatan spora dihitung dengan menggunakan rumus Gabriel & Riyatno, (1989) dalam Herlinda *et al.*, (2006) sebagai berikut:

$$C = \frac{t}{(n \times 0,25)} \times 10^6$$

Keterangan:

C : kerapatan spora per mL larutan

t : jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati

n : jumlah kotak sampel (5 kotak besar \times 16 kotak kecil)

0,25 : faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada haemositometer

Persiapan Inokulum

Konsentrasi inokulum yang diinokulasikan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$= \frac{n}{a} \times 100$$

- n : konsentrasi yang digunakan (%)
- n : banyaknya suspensi spora yang digunakan (mL)
- a : substrat yang digunakan (gram)

Persiapan Substrat

Biji durian dan nangka yang digunakan adalah biji segar yang diperoleh dari buah durian dan nangka yang dijual di pasar tradisional wilayah Kota Salatiga dan Kabupaten Semarang. Biji nangka dan biji durian dibersihkan dari bagian kulit biji dan dicuci menggunakan aquades sampai lendir hilang. Kedua jenis biji dicacah dan dihaluskan dengan blender, kemudian dikeringkan pada suhu 60°C selama 48 jam. Tepung diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 16 mesh (setara dengan 1 mm atau mesh nomor 18).

Tepung biji sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam botol vial 250 mL yang berisi 2 ml larutan garam yang mengandung (gram/ liter aquades) 2 gram KH_2PO_4 , 5 gram NH_4NO_3 , 1 gram NaCl, dan 1 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Kadar air awal substrat diatur mencapai 60% dengan menambahkan aquades steril. Menurut Dikhsit & Tallapragada (2013), kadar air substrat dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air substrat (\%)} = \frac{100 \times (\text{berat basah} - \text{berat kering})}{\text{berat basah}}$$

pH awal diatur hingga mencapai 6. Pada setiap botol vial yang berbeda, ditambahkan sumber nitrogen yaitu pepton dengan konsentrasi (w/w) 0%, 1%, 2%, dan 3%. Setelah itu botol vial ditutup dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit dan didinginkan pada suhu ruang.

Analisis Proksimat

Analisis proksimat meliputi penghitungan kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, kadar serat kasar, dan kadar karbohidrat.

Fermentasi Padat

Medium dalam bentuk tepung yang telah disterilisasi diinokulasi 0,5 mL (kepadatan 10^5 spora/ mL, konsentrasi 10%) suspensi spora *Monascus* sp. yang berumur 8 hari secara aseptis. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang atau 30°C selama 8 hari dalam kondisi statis.

Estimasi Pigmen Ekstraseluler (Babitha et al., 2006)

Hasil fermentasi ditambahkan dengan etanol 90% sebanyak 5 mL per gram berat substrat yang digunakan. Campuran tersebut

dihomogenkan menggunakan rotary shaker 200 rpm selama 1 jam. Setelah didiamkan selama 15 menit, kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat dimasukkan dalam cuvet kemudian diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm. Blanko yang digunakan adalah ekstrak etanol 90% dari substrat yang tidak difermentasi. Hasil pigmen (*Color Value Unit (CVU)/gram dry substrate (gds)*) dihitung melalui panjang gelombang hasil pengukuran () per gram substrat kering (gram).

Analisis konsentrasi pigmen menurut Dikhsit & Tallapragada (2013), dihitung dari nilai absorbansi dapat dikonversikan dalam unit pigmen dengan rumus:

$$\text{Konsentrasi pigmen (CVU/gds)} = \frac{\text{O.D} \times \text{pengenceran} \times \text{volume ekstrak (mL)}}{\text{jumlah sampel (gram)}}$$

Estimasi Biomassa (Velmurugan et al., 2011)

Pertumbuhan kultur kapang diestimasi dengan menentukan N-asetil glukosamin yang dihasilkan melalui hidrolisis asam dari kitin pada dinding sel kapang. Tepung hasil fermentasi sebanyak 0,5 gram dicampur dengan 1 ml H_2SO_4 pekat. Reagen asetil aseton sebanyak 1 ml ditambahkan ke campuran, kemudian dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 20 menit. Setelah didinginkan ditambahkan 6 ml etanol dan 1 ml reagen Ehrlich, kemudian diinkubasi pada 65°C selama 10 menit. Setelah didinginkan di suhu ruang, densitas optik/ *Optical Density* (OD) diukur pada 530 nm menggunakan N-asetil glukosamin sebagai standar.

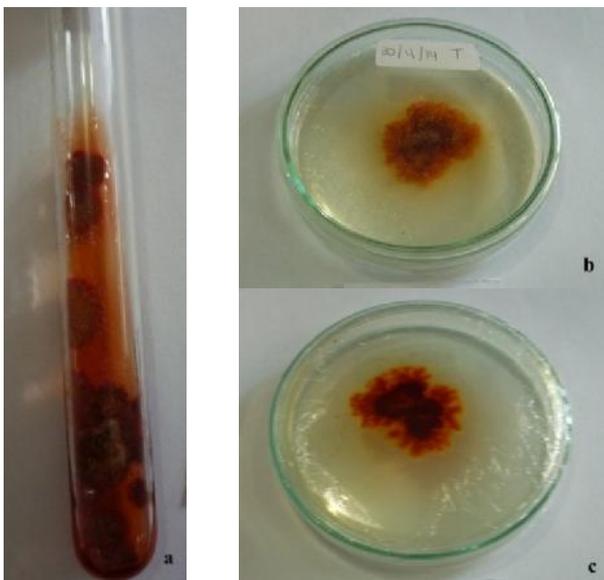
Analisis Data

Analisis data hasil penelitian menggunakan Minitab 14.0 dengan uji lanjut menggunakan SAS v9 dianalisis dengan ANOVA. Data fermentasi pada substrat tepung biji nangka dan tepung biji durian yang menunjukkan hasil yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%, sedangkan data fermentasi pada substrat tepung biji durian yang menunjukkan hasil yang tidak signifikan tidak dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Data pengaruh pepton yang signifikan pada kedua substrat diuji korelasi Pearson menggunakan Minitab 14.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

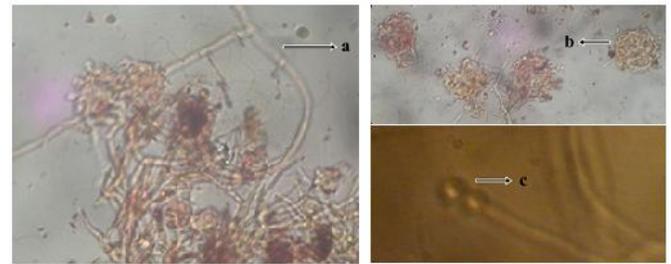
1. Morfologi *Monascus* sp.

Gambar 1 menunjukkan morfologi koloni *Monascus* sp., yaitu permukaan koloni berwarna merah, permukaan sebalik (reverse of colony) juga berwarna merah, dan bagian tepi koloni tidak rata. Hal ini sesuai dengan pernyataan Carvalho *et al.* (2005) bahwa koloni *Monascus* sp. pada PDA memiliki permukaan datar dengan beberapa pertumbuhan aerial. Miselium berwarna putih kemudian berubah menjadi merah dari tengah menuju pinggir koloni serta warna merah dapat berdifusi ke dalam medium.



Gambar 1. *Monascus* sp. pada medium PDA inkubasi 8 hari pada suhu 28°C
Keterangan: a: *Monascus* sp. pada agar miring
b: koloni *Monascus* sp.
c: Reverse of colony *Monascus* sp.

Gambar 2 menunjukkan morfologi mikroskopis koloni *Monascus* sp., yaitu memiliki hifa bersepta, aleurokonidia, dan kleistotesia. Berdasarkan karakteristik makroskopis dan mikroskopis yang dimiliki, menurut Domsch, *et al.* (1980) isolat ini termasuk genus *Monascus*.



Gambar 2. Mikroskopis *Monascus* sp. pada medium PDA inkubasi 7 hari pada suhu 28°C (perbesaran 400x)
Keterangan: a. hifa, b. Kleistotesia, c. aleurokonidia

2. Fermentasi Padat pada Substrat Tepung Biji Nangka dan Tepung Biji Durian

Penelitian ini membuktikan bahwa *Monascus* sp. dapat tumbuh dan menghasilkan pigmen merah pada kedua jenis substrat yaitu tepung biji nangka dan biji durian. *Monascus* sp. dapat memanfaatkan nutrisi dari kedua jenis substrat untuk tumbuh dan memproduksi metabolit sekunder berupa pigmen. Hal ini sejalan dengan pernyataan Patakova (2013), yang menyatakan bahwa *Monascus* sp. dapat memproduksi enzim litik, sehingga memungkinkan pertumbuhan pada spektrum substrat yang berbeda seperti monosakarida, disakarida, pati, dan pektin.

Perbedaan pertumbuhan dan perubahan tingkat warna kemerahan terjadi secara visual pada kedua substrat yang digunakan. Benang-benang putih mulai terlihat tumbuh pada substrat tepung biji nangka pada inkubasi hari kedua, sedangkan di substrat tepung biji durian baru terlihat pada inkubasi hari ketiga dan keempat. Perubahan warna substrat juga berbeda yaitu pada substrat tepung biji durian yaitu pada inkubasi hari kelima, sedangkan pada substrat tepung biji nangka mulai terlihat perubahan warna menjadi merah muda pada inkubasi hari ketiga dan menjadi merah pada hari kelima. Perubahan warna pada substrat tepung biji nangka di beberapa perlakuan penambahan variasi konsentrasi pepton mengalami fase perubahan dari miselium putih menjadi berwarna agak oranye sebelum menjadi merah.

3. Konsentrasi Pigmen Merah

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa penambahan pepton dengan konsentrasi berbeda dan tipe substrat berpengaruh terhadap produksi pigmen merah ($p < 0.05$), serta terdapat interaksi antara keduanya yang berpengaruh terhadap produksi pigmen merah ($p < 0.05$) (Lampiran 4). Tabel 1 menunjukkan rerata produksi pigmen merah pada tipe substrat dan konsentrasi penambahan pepton berbeda.

Tabel 1. Rerata produksi pigmen merah pada tipe substrat dan konsentrasi penambahan pepton berbeda pada inkubasi 8 hari

Pepton	Produksi Pigmen Merah (CVU/gds)	
	Tepung Biji Nangka	Tepung Biji Durian
0%	1,40 ^c	0,32 ^a
1%	3,83 ^b	0,34 ^d
2%	5,55 ^a	0,98 ^d
3%	3,92 ^b	0,20 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf superskrip yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

Substrat tepung biji nangka dengan penambahan pepton 2% menunjukkan hasil produksi pigmen tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi substrat tersebut lebih efektif untuk menghasilkan produksi pigmen yang tinggi. Menurut Kusumawati *et al.* (2005), pembentukan pigmen dipengaruhi oleh perbandingan C dengan N. Apabila konsentrasi C dalam media diimbangi dengan konsentrasi N yang dibutuhkan untuk mencapai pertumbuhan maksimum dan pembentukan pigmen.

Tabel 2. Hasil analisis proksimat tepung biji nangka dan tepung biji durian

Tipe substrat	Air (%)	Kadar dalam 100% bahan kering				
		Abu (%)	Lemak kasar (%)	Serat kasar (%)	Protein kasar (%)	BETN (%)
Tepung biji nangka	21,71	3,91	1,62	2,16	13,35	78,96
Tepung biji durian	11,55	3,66	0,75	1,85	7,34	74,9

Biji durian dan biji nangka memiliki kandungan mirip beras yang digunakan sebagai substrat pembuatan angaka secara tradisional, yaitu amilosa dan amilopektin (Tulyathan *et al.*, 2002; Sugiyono, 2011).

Tepung biji nangka secara keseluruhan memiliki kandungan nutrisi yang lebih tinggi daripada tepung biji durian (Tabel 2), sehingga menghasilkan rerata produksi pigmen merah yang

lebih tinggi. Karbohidrat sebagai sumber C utama berperan penting pada proses pertumbuhan dan pembentukan pigmen awal dan kandungan nutrisi lain juga dapat menjadi sumber C, N, dan mikronutrien yang berpengaruh terhadap proses pertumbuhan dan pembentukan pigmen merah, sehingga tepung biji nangka dapat menghasilkan rerata produksi pigmen merah yang lebih tinggi. Karbohidrat akan dipecah pada tahap glikolisis, sehingga terbentuk asetil koA dan malonil koA. Reaksi antara keduanya akan menghasilkan pigmen oranye yang jika bereaksi dengan asam amino (hasil dari pemecahan protein) dapat menghasilkan pigmen merah. Kandungan protein kasar pada tepung biji nangka yang lebih tinggi diduga menghasilkan asam amino yang lebih tinggi, sehingga menyebabkan reaksi yang lebih besar dalam pembentukan pigmen merah.

Kedua tipe substrat menghasilkan peningkatan produksi pigmen merah pada penambahan pepton dengan konsentrasi 1% dan 2%. Penurunan produksi pigmen merah terjadi saat penambahan pepton 3% pada kedua substrat, hal ini dapat disebabkan perbandingan C dan N di dalam media tidak terdapat dalam jumlah yang seimbang untuk mendukung pembentukan pigmen. Selain itu, penurunan produksi pigmen merah dapat terjadi karena penambahan pepton 3% diduga mulai menjadi faktor inhibitor dalam produksi pigmen merah.

Menurut Patakova (2013), pigmen merah yang dihasilkan oleh *Monascus* sp. terdiri dari monascorubramin ($C_{23}H_{27}NO_4$) dan rubropuntamin ($C_{21}H_{23}NO_4$). Penambahan pepton dapat mempengaruhi perubahan kecil pada pH selama proses fermentasi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan produksi pigmen (Babitha *et al.*, 2006). Pigmen merah sebagai hasil dari substitusi atom oksigen dengan nitrogen pada pigmen oranye di akhir juga dapat dipengaruhi penambahan pepton, karena lebih banyak reaksi substitusi yang terjadi.

4. Biomassa Kapang

Perhitungan biomassa sel dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan *Monascus* sp. pada substrat tepung biji durian dan biji nangka dengan perlakuan variasi penambahan sumber nitrogen. Perhitungan biomassa sel dilakukan pada akhir inkubasi. Pengukuran biomassa secara langsung dari fermentasi padat tidak mungkin dilakukan

karena miselium tidak dapat dipisahkan dari substrat.

Biomassa kapang dari substrat pada fermentasi padat sangat sulit dihitung secara maksimal, karena hifa kapang berpenetrasi ke dalam dan terikat erat dengan partikel substrat. Glukosamin digunakan karena merupakan komponen yang stabil pada kitin dari dinding sel miselia meskipun proporsi kitin pada miselium sangat dipengaruhi umur kultur dan kondisi lingkungan (Aziz *et al.*, 2008).

Tabel 3. Rerata biomassa pada tipe substrat dan konsentrasi penambahan pepton berbeda pada inkubasi 8 hari

Pepton	Biomassa (mg/gds)	
	Tepung Biji Nangka	Tepung Biji Durian
0%	1,03	1,02
1%	1,24	1,29
2%	1,65	1,42
3%	1,34	1,10

Tabel 3 menunjukkan rerata biomassa kapang pada akhir inkubasi tersaji pada. Hasil ANOVA menunjukkan bahwa hanya variasi konsentrasi penambahan pepton yang berpengaruh terhadap biomassa kapang pada akhir inkubasi ($p < 0,05$), sedangkan interaksi antara tipe substrat dan variasi konsentrasi penambahan pepton tidak berpengaruh terhadap biomassa kapang pada akhir inkubasi ($p > 0,05$).

Tabel 4. Rerata biomassa pada konsentrasi penambahan pepton berbeda pada inkubasi 8 hari

Konsentrasi pepton	Biomassa (mg/gds)
Kontrol (0%)	1,03 ^b
1%	1,27 ^{ab}
2%	1,53 ^a
3%	1,22 ^b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf superskrip yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

Penambahan pepton dengan konsentrasi 1% dan 2% menghasilkan kenaikan biomassa jika dibandingkan kontrol (0%). Hal ini sesuai dengan pernyataan Said (2010), bahwa suplementasi nutrisi ke dalam substrat padat dibutuhkan untuk meningkatkan pertumbuhan dan metabolisme, khususnya jika substrat berasal dari residu agrikultural. Penurunan terjadi pada penambahan pepton 3% diduga karena nitrogen dapat menjadi salah satu faktor pembatas pertumbuhan yang hanya dibutuhkan dalam batas jumlah tertentu dan

diduga penambahan pepton dalam dosis kecil dapat menimbulkan efek stimulasi, sedangkan dosis besar akan menyebabkan efek inhibisi.

SIMPULAN

Monascus sp. dapat tumbuh dan memproduksi pigmen merah pada substrat tepung biji durian (*D. zibethinus* Murr.) dan biji nangka (*A. heterophyllus* Lam.) dengan variasi penambahan sumber nitrogen berupa pepton 0%, 1%, 2%, dan 3%. Fermentasi pada substrat tepung biji nangka dengan penambahan pepton 2% paling tinggi meningkatkan produksi pigmen merah jika dibandingkan dengan variasi perlakuan yang lain. Penambahan pepton 2% pada kedua jenis substrat menghasilkan biomassa paling tinggi, serta terdapat korelasi positif antara biomassa dan produksi pigmen merah.

DAFTAR PUSTAKA

- Aziz, S., G. S. Hung & A. M. Hassan. 2008. Indirect method for quantification of cell biomass during solid state fermentation of palm kernel cake based on protein content. *Asian J.Sci. Res.* 1 (4): 385-393.
- Babhita, S., C. R. Soccol & A. Pandey. 2006. Jackfruit seed- a novel substrate for the production of *Monascus* pigments through solid-state fermentation. *Food Technol. Biotechnol.* 44 (4) 465-471.
- Badan Pusat Statistik. 2012. *Produksi Buah-buahan Menurut Provinsi*. http://www.bps.go.id/tab_sub/view.php?tabel=1&daftar=1&id_subyek=55¬ab=2 25 Februari 2014.
- Bhat, S. V., S. S. Khan & T. Amin. 2013. Isolation and characterization of pigmen producing bacteria from various foods for their possible use as biocolours. *Int. J. of Recent Sci. Res.* 4: 1605-1609.
- Carvalho, J. C., B. O. Oishi, A. Pandey & C. R. Soccol. 2005. Biopigments from *Monascus*: strains selection, citrinin production and color stability. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48 (6): 885-894.
- Dikhsit, R. & P. Tallapragada. 2013. Exploring *Monascus sanguineus* as a potential natural source for a pigment production. *Int. Res. J. Biol. Sci.* 2(5): 59-67.

- Domsch, K. H., W. Gams & T. H. Anderson. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Volume I. Academic Press, London.
- Gunasekaran, S. & R. Poorniamal. 2008. Optimization of fermentation conditions for red pigment production from *Penicillium* sp. under submerged cultivation. *Afr. J. Biotechnol.* 7(12): 1894-1898.
- Herlinda, S., M. D. Utama, Y. Pujiastuti & Suwandi. 2006. Kerapatan dan viabilitas spora *Beauveria bassiana* (Bals.) akibat subkultur dan pengayaan media, serta virulensinya terhadap larva *Plutella xylostella* (Linn.). *J. HPT Tropika*. 6(2): 70-78.
- Kusumawati, N. & I. Srianta. 2011. Produksi pewarna alami dari *Monascus* sp KJR2 dengan media biji durian, karakterisasi dan aplikasinya pada produk pangan. PDI LIPI. [http:// elib.pdii.lipi.go.id /katalog/index.php/search_katalog/byId/283527](http://elib.pdii.lipi.go.id/katalog/index.php/search_katalog/byId/283527). 26 Januari 2014.
- Kusumawati, T. H., S. Suranto & R. Setyaningsih. 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.
- Lay, B. W. & S. Hastowo. 1992. *Mikrobiologi*. Rajawali Press. Jakarta.
- Muharni, S., Almahdy, & R. D. Martini, 2013. Efek penggunaan suplemen ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn.) dan angkak (*Monascus purpureus*) dalam meningkatkan trombosit pada demam berdarah dengue (DBD) di instalasi rawat inap ilmu penyakit dalam RSUP. DR. M. Djamil Padang. *Jur. Penel. Farm. Ind.* 1(2): 57-61.
- Muthuselvam, M., T. Sheeba & R. Rajasekaran. 2009. Analysis of microbial pigment productivity in *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*. *Adv. Biotechnol.* pp: 10-14.
- Patakova, P. 2013. *Monascus* secondary metabolites: production and biological activity. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 40:169-181.
- Said, F. B. M. 2010. *Monascus ruber* ICMP 15220 fermentation for the production of pigments. *Thesis*. Philosophy in Bioprocess Engineering. Massey University New Zealand.
- Sari, K. T. P. 2012. Pemanfaatan tepung biji nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk) sebagai substitusi dalam pembuatan kudapan berbahan dasar tepung terigu untuk pmt pada balita. *Skripsi*. Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Semarang.
- Shi, Y. C. & T. M. Pan. 2011. Beneficial effects of *Monascus purpureus* NTU 568-fermented products. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 90(1): 1207-1217.
- Srianta, I., B. Hendrawan, N. Kusumawati & P. J. Blanc. 2012. Study on durian seed as a new substrat for angkak production. *Int. Food Res. J.* 19(3): 941-945.
- Subhasree, R. S., P. D. Babu, R. Vidyalakshmi & V. C. Mohan. 2011. Effect of carbon and nitrogen source on stimulation of pigment production by *Monascus purpureus* on jackfruit seeds. *Int. J. Microbiol. Res.* 2: 184-187.
- Sugiyono, S. 2002. Pengaruh variasi kadar amilum biji durian (*Durio zibethinus* Murr.) sebagai bahan pengikat terhadap sifat fisik dan kimia tablet parasetamol. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi*. pp. 67-71.
- Timotius, K. H. 2004. Produksi pigmen angkak oleh *Monascus*. *Jurnal Teknol. dan Industri Pangan*. 15(1): 79-86.
- Tulyathan, V., K. Tananuwong, P. Songjinda & N. Jaiboon. 2002. Some physicochemical properties of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) seed flour and strach. *Science Asia*. 28: 37-41.
- Velmurugan, P., H. Hur, V. Balachandar, S. K. Kannan, K. J. Lee, S. M. Lee, J. C. Chae & B. T. Oh. 2011. *Monascus* pigment production by solid state fermentation with corn cob substrate. *J. Biosci. Bioeng.* 112(6): 590-594.