# KATA PENGANTAR

***Bismillahirrahmanirrahiim***

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, yang telah memberikan kekuatan, kesehatan dan kenikmatan yang tidak terhingga, serta karena rahmat dan karunianya penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir ini. Shalawat serta salam selalu tercurah limpah kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW.

Penulisan Laporan Tugas Akhir ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak baik moril maupun materil, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ir.Sumartini, MP. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, nasihat, saran dan pengarahan kepada penulis selama penyusunan laporan penelitian tugas akhir, serta selaku koordinator Dikjar Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung.
2. Dr.Ir.Yusman Taufik, MP. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, nasihat, saran dan pengarahan kepada penulis selama penyusunan laporan penelitian tugas akhir
3. Dra. Hj. Ela Turmala Sutrisno, M.Sc. selaku Koordinator Tugas Akhir
4. Kedua orang tua Bapak Usep Kurniadin dan Ibu Yanti Kaniati dan keluarga yang tidak ada henti-hentinya memberikan doa, motivasi dan semangat pada penulis. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan perlindungan dan kasih sayang seperti mereka telah melimpahkan kasih sayangnya kepadaku, Aamiin.
5. Teman-teman seperjuangan *foodtech for* F yang selalu memberi motivasi dan dukungan.
6. Sahabat – sahabat tercinta Harfiana Daristi, Alnabila Fasha, Trisna Megawati, Devi Ramadhani, Asri Octaviani, Annisa Febrianingsih, Yulianti Fazriah, Yosi Hertianto, Dwiputra Ardiriyanto, Darin Intan Khairunnisa, Dini Lailatul Khasanah yang selalu memberikan semangat serta dukungan pada penulis untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini.
7. Staff Tata Usaha Prodi Teknologi Pangan dan Laboran yang turut membantu dalam persiapan pelaksanaan penelitian dan seminar maupun sidang tugas akhir.
8. Ibu Yati selaku pengrajin tape singkong, yang sudah membantu dan memfasilitasi bahan baku dalam penelitian ini.
9. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Laporan Tugas Akhir ini masih terdapat banyak kekurangan, hal ini tidak terlepas dari diri penulis sebagai manusia yang tidak pernah luput dari kesalahan dengan keterbatasan pengetahuan serta jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu kritik, saran dan masukkan sangat penulis harapkan.

Akhir kata dan tidak lupa penulis mengucapkan *Alhamdulillah*, penulis berharap semoga Laporan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan umumnya bagi semua pihak yang membaca. Terima kasih.

# DAFTAR ISI

[KATA PENGANTAR i](#_Toc472961212)

[DAFTAR ISI iv](#_Toc472961213)

[DAFTAR TABEL vii](#_Toc472961214)

[DAFTAR GAMBAR viii](#_Toc472961215)

[DAFTAR LAMPIRAN x](#_Toc472961245)

[ABSTRAK xi](#_Toc472961246)

[ABSTRACT xii](#_Toc472961247)

[I. PENDAHULUAN 1](#_Toc472961248)

[1.1 Latar Belakang 1](#_Toc472961249)

[1.2 Identifikasi Masalah 4](#_Toc472961250)

[1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian 4](#_Toc472961251)

[1.4 Manfaat Penelitian 5](#_Toc472961252)

[1.5 Kerangka Pemikiran 5](#_Toc472961253)

[1.6 Hipotesis Penelitian 8](#_Toc472961254)

[1.7 Waktu dan Tempat 8](#_Toc472961255)

[II. TINJAUAN PUSTAKA 9](#_Toc472961256)

[2.1 Singkong 9](#_Toc472961257)

[2.2 Kapang *Monascus purpureus* 12](#_Toc472961258)

[2.2.1 Produksi pigmen pada media padat 16](#_Toc472961259)

[2.2.2. Produksi pigmen pada media cair 17](#_Toc472961260)

[2.2.3 Pigmen *Monascus purpureus* 18](#_Toc472961261)

[2.3. Fermentasi 19](#_Toc472961262)

[2.3.1 Fermentasi aerobik 19](#_Toc472961263)

[2.3.2 Fermentasi anaerobik 20](#_Toc472961264)

[2.4 Angkak 22](#_Toc472961265)

[III. METODOLOGI PENELITIAN 25](#_Toc472961266)

[3.1 Bahan dan Alat 25](#_Toc472961267)

[3.1.1. Bahan-bahan yang digunakan 25](#_Toc472961268)

[3.1.2. Alat- alat yang digunakan 25](#_Toc472961269)

[3.2 Metode Penelitian 26](#_Toc472961270)

[1. Penelitian Pendahuluan 26](#_Toc472961271)

[2. Penelitian Utama 26](#_Toc472961272)

[3.2.1. Rancangan Perlakuan 27](#_Toc472961273)

[3.2.2 Rancangan Respon 27](#_Toc472961274)

[3.3 Deskripsi Penelitian 27](#_Toc472961275)

[3.3.1 Deskripsi Pembuatan kultur *Monascuss purpureus* 27](#_Toc472961276)

[3.3.2 Deskripsi penelitian pendahuluan pembuatan starter angkak limbah singkong 28](#_Toc472961277)

[3.3.3 Deskripsi penelitian utama pembuatan angkak limbah singkong 31](#_Toc472961278)

[3.4 Diagram Alir Penelitian 34](#_Toc472961279)

[3.4.1 Diagram Alir Penelitian Pendahuluan 34](#_Toc472961280)

[3.4.2 Diagram Alir Penelitian Utama 36](#_Toc472961281)

[3.5 Jadwal Penelitian 37](#_Toc472961282)

[IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 38](#_Toc472961283)

[4.1 Penelitian Pendahuluan 38](#_Toc472961284)

[4.1.1 Analisa Bahan Baku 38](#_Toc472961285)

[4.1.2 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme 40](#_Toc472961286)

[4.1 Pennelitian Utama 44](#_Toc472961287)

[4.2.1 Intensitas pigmen merah angkak limbah singkong 44](#_Toc472961288)

[4.2.2 Intensitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong terhadap Kelarutan Pigmen dalam Air 48](#_Toc472961289)

[4.2.3 Kadar air angkak limbah singkong dengan variasi konsentrasi starter dan lama fermentasi 52](#_Toc472961290)

[4.2.4 Stabilitas pigmen merah angkak limbah singkong terhadap suhu 54](#_Toc472961291)

[V. KESIMPULAN DAN SARAN 57](#_Toc472961292)

[5.1 Kesimpulan 57](#_Toc472961293)

[5.2 Saran 57](#_Toc472961294)

[DAFTAR PUSTAKA 58](#_Toc472961295)

# DAFTAR TABEL

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Tabel** |  | **Halaman** |
| **1.**  **2.**  **3.**  **4.**  **5.**  **6.**  **7.**  **8.**  **9.**  **10.**  **11.**  **12.** | [Kandungan Kalori dan Komposisi Zat Gizi dalam 100 gram Singkong](#_Toc467716416)  [JadwalPenelitian](#_Toc467716417)  [Analisis kandungan pati dan HCN pada limbah singkong](#_Toc467716418)  [Jumlah spora *Monascus purpureus* pada substrat cair](#_Toc467716419)  [Jumlah spora *Monascus purpureus* pada substrat padat](#_Toc467716420)  [Mg laktosa pada setiap titrasi ml Na2S2O3 (0,1 N)](#_Toc467716421)  [Jumlah spora *Monascus purpureus* substrat cair](#_Toc467716422)  [Jumlah spora Monascus purpureus substrat padat](#_Toc467716423)  [Data Absorbansi Pigmen Merah yang Dihasilkan oleh *Monascus purpureus*](#_Toc467716424)  [Data Absorbansi Kelarutan Pigmen Merah Angkak dalam Air](#_Toc467716425)  [Data Absorbansi Stabilitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong Terhadap Suhu](#_Toc467716426)  [Data Kadar Air Angkak Limbah Singkong](#_Toc467716427) | 11  37  38  40  41  74  76  78  81  84  87  89 |

# DAFTAR GAMBAR

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Gambar** |  | **Halaman** |
| **1.**  **2.**  **3.**  **4.**  **5.**  **6.**  **7.**  **8.**  **9.**  **10.**  **11.**  **12.**  **13.**  **14.**  **15.**  **16.**  **17.**  **18.**  **19.**  **20.**  **21.**  **22.**  **23.**  **24.**  **25.**  **26.**  **27.**  **28.**  **29.** | [Bagian - Bagian Singkong](#_Toc468142684)  [Pembentukan Metabolit Sekunder Pigmen](#_Toc468142685)  [Rumus struktur pigmen angkak](#_Toc468142686)  [Diagram Alir Pembuatan Starter Angkak Media Padat](#_Toc468142687)  [Diagram Alir Pembuatan Starter Angkak Media Cair](#_Toc468142688)  [Diagram Alir Penelitian Utama](#_Toc468142689)  [Grafik Pertumbuhan Mikroorganisme.](#_Toc468142690)  [Grafik Pertumbuhan *M. purpureus* substrat cair dan substrat padat](#_Toc468142691)  [Intensitas pigmen merah angkak limbah singkong](#_Toc468142692)  [Intensitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong terhadap Kelarutan Pigmen dalam Air pada konsentrasi 11%](#_Toc468142693)  [Intensitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong terhadap Kelarutan Pigmen dalam Air pada konsentrasi 12%](#_Toc468142694)  [Intensitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong terhadap Kelarutan Pigmen dalam Air pada konsentrasi 13%](#_Toc468142695)  [Kadar Air Angkak dengan Konsentrasi Starter yang Berbeda](#_Toc468142696)  [Stabilitas Pigmen Angkak pada Suhu yang Berbeda konsentrasi 11%](#_Toc468142697)  [Stabilitas Pigmen Angkak pada Suhu yang Berbeda konsentrasi 12%](#_Toc468142698)  [Stabilitas Pigmen Angkak pada Suhu yang Berbeda konsentrasi 13%](#_Toc468142699)  [Grafik pertumbuhan M. purpureus substrat cair](#_Toc468142700)  [Grafik pertumbuhan M. purpureus substrat padat](#_Toc468142701)  [Grafik pertumbuhan *M. purpureus* substrat cair dan padat](#_Toc468142702)  [Intensitas pigmen merah pada konsentrasi 11%](#_Toc468142703)  [Intensitas pigmen merah pada konsentrasi 12%](#_Toc468142704)  [Intensitas pigmen merah pada konsentrasi 13%](#_Toc468142705)  [Absorbansi kelarutan pigmen dalam air pada suhu 27oC](#_Toc468142706)  [Absorbansi kelarutan pigmen dalam air pada suhu 60oC](#_Toc468142707)  [Absorbansi kelarutan pigmen dalam air pada suhu 80oC](#_Toc468142708)  [Absorbansi kelarutan pigmen dalam air pada suhu 100oC](#_Toc468142709)  [Kadar Air Pigmen Angkak Konsentrasi 11%](#_Toc468142710)  [Kadar Air Pigmen Angkak Konsentrasi 12%](#_Toc468142711)  [Kadar Air Pigmen Angkak Konsentrasi 13%](#_Toc468142712) | 1016183435364041444949505254545577798082828385858686909091 |

# DAFTAR LAMPIRAN

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Lampiran** |  | **Halaman** |
| **1.**  **2.**  **3.**  **4.**  **5.**  **6.**  **7.**  **8.**  **9.**  **10.**  **11.** | [Analisa Kadar Pati](#_Toc468701322)  [Analisis Kadar HCN](#_Toc468701323)  [Metode perhitungan sel total (*counting chamber*) AOAC (1995)](#_Toc468701324)  [Analisis Intensitas Pigmen Merah (Kasim, 2005)](#_Toc468701325)  [Analisis Kelarutan Pigmen Merah dalam Air (Kasim, 2005)](#_Toc468701326)  [Uji Kestabilan Pigmen Merah Terhadap Suhu](#_Toc468701327)  [Kadar Air (AOAC 1995)](#_Toc468701328)  [Kebutuhan Bahan Baku](#_Toc468701329)  [Hasil Analisis Bahan Baku Limbah Singkong](#_Toc468701330)  [Hasil Perhitungan Pertumbuhan Monascus purpureus](#_Toc468701331)  [Hasil Analisis Pigmen Angkak Limbah Singkong](#_Toc468701332) | 61  63  64  65  66  67  68  69  71  76  81 |

# ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui peningkatan pigmen merah yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* pada limbah singkong (*Manihot esculenta*) dengan variasi konsentrasi starter dan lama fermentasi.

Metode penelitian yang dilakukan terdiri dari dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu melakukan analisis bahan baku terhadap limbah singkong, dan memilih media yang digunakan dengan menghitung jumlah sel serta membuat grafik pertumbuhan mikroorganisme *Monascus purpureus*. Penelitian utama yang dilakukan yaitu mengetahui peningkatan produksi pigmen merah dari berbagai konsentrasi starter dan lama fermentasi. Adapun faktor yang digunakan adalah konsentrasi starter 11%, 12% dan 13% dengan lama fermentasi 14 hari. Respon pada penelitian ini meliputi respon kimia (kadar air), respon fisik (intensitas pigmen merah, intensitas warna terhadap kelarutanya dalam air dan stabilitas pigmen merah terhadap suhu).

Hasil penelitian menunjukan bahwa analisis bahan baku menunjukan limbah singkong mengandung komponen pati sebesar 33,065%, dan HCN sebesar 0,00%.

Media yang digunakan yaitu media padat dengan umur starter 5 hari dengan jumlah spora 1,89 x 107 spora/ml. Variasi Konsentrasi starter yang digunakan memberikan peningkatan terhadap intensitas pigmen merah. Akan tetapi peningkatan tidak terjadi terhadap kadar air, intensitas warna terhadap kelarutanya pada air dan stabilitas pigmen merah terhadap suhu. Produk yang memiliki intensitas pigmen merah tertingi adalah pada konsentrasi 13% dengan lama fermentasi 13 hari yang memiliki nilai absorban 3,070.

Kata kunci : Limbah singkong*, Monacus purpureus*, Konsentrasi starter, Lama Fermentasi, Angkak.

# ABSTRACT

*The purpose of this research was to known the* *enhancement of to red pigment production by Monascus purpureus on cassava waste with different concentrations starter and long fermentation.*

*The reasearch methods consists of two phases : a preliminary study and main study. A preliminary study did the analysis of raw materials cassava waste, chossen the medium to use and counted total number of cell and made a growth chart microorganism of Monascus purpureus. The main study determined to knew the* *enhancement of red pigment production with different concentrations starter and long fermentation. The factors which are used a concentration of 11%, 12% and 13% with long fermentation 14 days. The response in the study include chemical response (moisture), Physical response (intensity of the red pigment, color intensity toward solubility in water and red pigment stability toward temperature).*

*The study results showed that the analysis of raw materials showed cassava wastes containing starch component of 33,065%, and HCN of 0,00%. The medium used solid medium with strater have periode 5 days with total number spores 1.89 x 107 spores / ml. The different of concentration Starter influence have a enchancement the intensity of the red pigment. But nothing happen toward mositure, color intensity toward solubility in water and red pigment stability toward temperature. Which products have the highest intensity of the red pigment is concentration of 13% is with long fermentation 13 days and have absorbance value 3,070.*

*Keywords : Cassava waste, Monacus purpureus, Concentration starters, Long fermentation, Angkak.*

# PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai: (1) Latar Belakang Masalah, (2) Identifikasi Masalah, (3) Maksud dan Tujuan Penelitian, (4) Manfaat Penelitian, (5) Kerangka Penelitian, (6) Hipotesis Penelitian dan (7) Tempat dan Waktu Penelitian

## Latar Belakang

Singkong merupakan umbi yang kaya akan karbohidrat yaitu sekitar 80-90% dengan pati sebagai komponen utamanya. Umbi ini memiliki diameter 3-10 cm dan panjang 10-50 cm, ukuran ini berbeda–beda sesuai varietasnya dan pada umumnya bentuk singkong itu lonjong dan tidak beraturan. Ada beberapa macam varietas singkong yang unggul menurut jenisnya salah satunya adalah singkong mentega.

Singkong mentega adalah jenis atau varietas singkong yang biasa digunakan untuk pembuatan tape singkong. Pada umumnya mempunyai bentuk yang lonjong dan bertangkai sedang, kulit luar berwarna cokelat serta kulit bagian dalam dan daging berwarna kuning. Singkong mentega dapat dipanen dalam waktu 9-10 bulan, singkong mentega ini jika direbus akan menghasilkan rasa yang manis dan empuk. Pada pengolahan tape singkong ini ada beberapa bagian yang tidak dapat digunakan dan menjadi limbah dan penggunaanya masih terbatas untuk pakan ternak (Rukmana, 1997).

Pemanfaatan limbah pengolahan tape singkong sampai saat ini dimanfaatkan oleh masyarakat baru digunakan sebagai pakan ternak dan belum dimanfaatkan sebagai komoditi yang memiliki nilai lebih. Oleh karena itu dalam penelitian ini limbah singkong akan digunakan sebagai substrat pada pembuatan pewarna angkak. Dimana angkak ini pada umumnya merupakan produk hasil fermentasi beras yang menghasilkan warna merah karena aktivitas kapang *Monascus purpureus* sebagai metabolit sekunder.

Beras sejauh ini dinilai sebagai substrat terbaik untuk memproduksi pigmen. Selain karena kandungan karbohidrat yang tinggi, keunggulan ini terutama karena komposisinya yang kompleks dan dapat menderepresi (mempertahankan) pembentukan pigmen, juga karena struktur mikroskopisnya yang baik untuk penetrasi hifa atau difusi pigmen. Mengingat beras merupakan bahan makanan pokok di Indonesia, maka diperlukan substrat alternatif untuk pembuatan angkak yang lebih murah dan keberadaanya melimpah. Oleh karena itu dalam rangka pemanfaatan limbah pengolahan tape singkong ini akan digunakan sebagai substrat dalam pembuatan angkak (Timotius, 2004).

Limbah pengolahan tape singkong memiliki potensi untuk digunakan sebagai substrat pembuatan angkak karena kemiripan kandungan gizinya dengan beras yaitu mengandung karbohidrat dan proteinya yang cukup tinggi, dimana karbohidrat dan protein ini menjadi nutrisi penting bagi kapang *Monascus purpureus* sebagai sumber karbon (C) dan nitrogen (N) untuk pertumbuhanya. Pada umumnya kapang *Monascus purpureus* dapat menggunakan berbagai komponen makanan, dari yang sederhana sampai kompleks. Kebanyakan kapang memproduksi enzim hidrolitik seperti amilase, pektinase, proteinase dan lipase sehingga dapat tumbuh pada substrat yang mengandung pati, protein atau lipid (Fardiaz, 1992)

Pertumbuhan kapang *Monascus* menjadi indikator kunci dalam sintesis metabolit pigmen, kapang *Monascus* ini merupakan faktor penting dalam fermentasi ini. Fermentasi adalah proses perubahan senyawa kompleks dari suatu bahan menjadi senyawa sederhana dengan bantuan aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Hasil fermentasi ini dipengaruhi oleh nutrisi, kadar air, suhu, nilai pH, lama fermentasi dan ketersediaan oksigen (Amelia, 2014).

Dalam penelitian Hendrawan (2011) yang menggunakan beras sebagai substrat menyatakan bahwa kadar air media yang digunakan mempengaruhi produksi pigmen merah, semakin tinggi kadar air bahan maka semakin tinggi pula produksi pigmen oleh *Monascus.* Namun, kadar air yang terlalu tinggi (≥80%) akan mengakibatkan produksi pigmen terhambat karena media menjadi terlalu basah dan semakin banyak air bebas yang menghambat aerasi.

Produksi pigmen dapat dilakukan pada media padat maupun cair, dimana pertumbuhan pada kedua substrat ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan juga faktor konsentrasi dan lamanya fermentasi. Penambahan inokulum yang dianjurkan untuk fermentasi padat maupun cair pada substrat beras adalah sebanyak 2 x 106 hingga 2 x 108cfu/ml. apabila menggunakan starter cair sebanyak 15-20% (v/b) dengan lama fermentasi selama 14 hari (Tedjautama dan Zubaidah, 2014).

Dalam penelitian Irdawati (2010) dimana menggunakan kulit ubi kayu sebagai substrat menyatakan bahwa konsentrasi yang paling optimum untuk menghasilkan pigmen merah angkak adalah konsentrasi 12% dengan lama fermentasi 11 hari. Berbeda dengan penggunaan dedak padi sebagai substrat konsentrasi yang optimum untuk ditambahkan adalah 10% dengan lama fermentasi selama 16 hari.

Konsentrasi starter atau inokulum dapat mempengaruhi produksi pigmen karena berkaitan dengan ketersediaan nutrisi di dalam medium, dimana jumlah salah satunya tidak boleh berlebih artinya antara konsentrasi dan nutrisi di dalam media harus seimbang. Hal ini pun tentu berkaitan dengan lamanya fermentasi sesuai dengan tersedianya nutrisi dalam media, semakin lama fermentasi maka kadar pigmen yang dihasilkan pun semakin tinggi sampai lama fermentasi tertentu. (Irdawati, 2010)

## Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan diatas maka dapat diidentifikasikan masalahnya sebagai berikut :

1. Bagaimana variasi konsentrasi starter pada limbah singkong (lapisan kambium) terhadap peningkatan produksi pigmen merah yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* ?
2. Bagaimana lama fermentasi pada limbah singkong (lapisan kambium) terhhadap peningkatan produksi pigmen merah yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* ?

## Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini untuk memanfaatkan serta mengoptimalkan limbah singkong pada pembuatan tape menjadi produk yang memiliki nilai lebih.

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui peningkatan produksi pigmen merah yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* pada limbah singkong dengan variasikonsentrasi dan lama fermentasi.

## Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat yaitu dapat menghasilkan produk angkak dari limbah singkong sebagai pewarna merah alami untuk makanan. Serta menginformasikan kepada masyarakat dan industri makanan bahwa pemanfaatan limbah singkong sebagai media fermentasi *Monascus purpureus* untuk menghasilkan pigmen merupakan salah satu upaya dalam mengoptimalkan limbah dari singkong pada pembatan tape.

## Kerangka Pemikiran

Angkak adalah beras yang difermentasi oleh kapang sehingga penampakannya berwarna merah. Kapang menghasilkan pigmen warna bersifat konsisten dan stabil, dapat bercampur dengan pigmen lainnya, tidak bersifat beracun (toksik) dan tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh (Triana dan Nurhidayat, 2009). Menurut Andreas dan Sri, (2012) Angkak memiliki kemampuan sebagai antimikroorganisme, khususnya untuk mikroorganisme patogen.

Angkak diproduksi jamur *Monascus* dengan mengkonversi substrat zat tepung menjadi beberapa metabolit, seperti alkohol, agen antibiotik, antihipertensi, enzim, asam lemak, senyawa aromatik, keton, asam organik, pigmen, dan vitamin (Yongsmith, 1999).

Senyawa karbon merupakan sumber energi dalam pembentukan sel kapang dan pigmen. *Monascus purpureus* mempunyai aktivitas sakarifikasi dan proteolitik, oleh karena itu dapat tumbuh baik pada medium yang mengandung pati dan protein. Selain enzim amilase dan protease, *Monascus* juga menghasilkan enzim maltase, invertase, lipase, oksidase, dan ribonuklease (Steinkraus dalam Kasim, 2005).

Frazier dan Westhoff dalam Irdawati (2010) menambahkan bahwa produk suatu fermentasi sangat tergantung pada konsentrasi starter, air, lama fermentasi, substrat, enzim, suhu, pH, dan kadar gula yang digunakan.

Berdasarkan hasil penelitian Amelia (2014) menunjukan bahwa berbagai konsentrasi starter berpengaruh terhadap produksi pigmen merah, kuning dan jingga oleh *Monascus purpureus* pada substrat tepung biji nangka. Konsentrasi yang digunakan adalah 0%, 5%, 10%, dan 15% (v/b). konsentrasi starter 15% merupakan konsentrasi yang optimum untuk produksi pigmen merah, kuning dan jingga yang masing – masing sebesar 0,10, 0,50 dan 0,20 unit absorbansi per gram sampel.

Irdawati (2010) menyatakan pada penelitiannya menggunakan kulit ubi kayu sebagai substrat, bahwa konsentrasi starter dan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap produksi pigmen merah *Monascus purpureus*. Pada penelitian ini konsentrasi starter yang digunakan adalah 0%, 6%, 8%, 10%, 12% dan 14% (v/v), sedangkan lama fermentasi yang digunakan adalah 9 hari, 11 hari, 13 hari, 15 hari dan 17 hari. Nilai absorbansi tertinggi diperoleh pada saat konsentrasi starter 12% dengan lama fermentasi 11 hari yaitu sebesar 4,012. Menurutnya lama fermentasi 11 hari merupakan fase stationer atau fase pertumbuhan yang tetap dimana kadar pigmen baru dihasilkan dalam jumlah maksimal oleh *M. purpureus* pada medium kulit ubi kayu. Sebagaimana dikemukakan Fardiaz (1998) 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 stationer.

Menurut Nufus (2013) berdasarkan analisis data, perbedaan konsentrasi starter spora *Monascus purpureus* untuk produksi pigmen merah dan jingga tidak berpengaruh signifikan pada substart tepung biji durian, tetapi berpengaruh signifikan terhadap produksi pigmen kuning. Konsentrasi yang digunakan adalah 0%, 5%, 10% dan 15%, konsentrasi starter *Monascus purpureus* paling optimum untuk produksi pigmen merah, jingga dan kuning secara berturut – turut pada substrat tepung biji durian adalah pada konsentrasi starter 10%, 5% dan 15%.

Berdasarkan analisis data Handayani (2011) didapatkan konsentrasi inokulum *Monascus purpureus* berpengaruh signifikan terhadap produksi pigmen merah *Monascus purpureus* pada angkak dedak padi, begitu pula lama hari fermentasi berpengaruh signifikan terhadap produksi pigmen merah *Monascus purpureus* pada angkak dedak padi. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 0%, 5%, 10% dan 15% (v/b) dan lamanya fermentasi 7 hari, 8 hari, 9 hari, 10 hari, 11 hari, 14 hari, 15 hari, dan 16 hari. Produksi pigmen merah Monascus purpureus pada angkak dedak padi paling optimum adalah pada konsentrasi starter 10% dan lama fermentasi selama 16 hari dengan nilai absorbansi sebesar 0,45 unit absorbansi/g.

Konsentrasi starter dapat mempengaruhi produksi pigmen karena berkaitan dengan ketersediaan nutrisi di dalam medium untuk memproduksi pigmen. Seperti yang diuangkapkan Irdawati (2010) bahwa apabila konsentrasi starter yang diberikan pada media kurang akan menyebabkan produksi pigmen tidak maksimum karena jumlah mikroba yang ada dalam medium tidak mencukupi dalam menghasilkan pigmen tersebut. Sebaliknya, apabila konsentrasi starter yang ditambahkan ke dalam media lebih atau terlalu banyak juga akan menyebabkan produksi pigmen tidak maksimum karena banyaknya starter menyebabkan terjadinya perebutan nutrisi dalam medium tersebut.

## Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran di atas, maka dapat ditarik hipotesis dalam penelitian ini yaitu adanya peningkatan produksi pigmen merah yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* pada limbah singkong dengan variasi konsentrasi starter dan lamanya fermentasi

## Waktu dan Tempat

Waktu penelitian dilakukan pada Juni hingga September 2016. Sedangkan tempat penelitian di lakukan di Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Pasundan Bandung.

# TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Singkong (2) Kapang (*Monascus purpureus*), (3) Fermentasi, (4) Angkak.

## Singkong

Singkong (*Manihot utilissima*), termasuk dalam Kingdom : *Plantae*, Divisi: *Spermathophyta* (tumbuhan berbiji), Sub divisi: *Angiospermae* (berbiji tertutup), Kelas: *Dicotyledoneae* (biji berkeping dua), Ordo: Euphorbiales, Family: *Euphorbiaceae*, Genus: *Manihot*, dan Spesie*s*: *Manihot esculenta*. Singkong merupakan tanaman pangan yang berasal dari benua Amerika berupa perdu, memiliki nama lain ubi kayu, singkong, kasepe, dan dalam Bahasa Inggris disebut *cassava*. Singkong termasuk famili *Euphorbiaceae* yang umbinya dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat dan daunnya dikonsumsi sebagai sayuran. Di Indonesia, singkong menjadi bahan pangan pokok setelah beras dan jagung (Lidiasari, 2006).

Singkong merupakan umbi atau akar pohon yang panjang dengan diameter dan tinggi yang beragam tergantung dari varietas singkong yang ditanam. Daging umbinya berwarna putih kekuning-kuningan. Umbi singkong tidak tahan disimpan lama meskipun di dalam lemari pendingin. Gejala kerusakan ditandai dengan keluarnya warna biru gelap akibat terbentuknya asam sianida yang bersifat racun bagi manusia. Umbi singkong merupakan sumber energi yang kaya karbohidrat yaitu sekitar 80-90% dengan pati sebagai komponen utamanya. Pati merupakan polisakarida yang kompleks yang tersusun atas 2 tipe komponen, yang terpisah satu dengan yang lainnya, yaitu amilosa dan amilopektin. Singkong ini terdiri dari kulit luar, kulit dalam, lapisan kambium, daging buah dan inti buah.

|  |
| --- |
| E:\Pictures\bagian bagian singkong.PNG |

Gambar 1. Bagian - Bagian Singkong

Amilosa memiliki berat molekul 10000-50000g/mol, terdiri dari atas 250-300 unit D-glukosa yang terikat dengan ikatan α-1,4 glikosidik, sehingga molekulnya merupakan rantai terbuka dan sifatnya larut dalam air. Sedangkan amilopektin secara preparatif memiliki berat molekul diatas 50000- jutaan g/mol, terdiri dari molekul D-glukosa yang sebgaian besar memiliki ikatan α-1,4 glikosidik dan sebagian lagi ikatan α-1,6 glikosidik. Adanya ikatan α-1,6 glikosidik ini menyebabkan terjadinya cabang, sehingga molekul amilopektin berbentuk rantai terbuka dan bercabang, dan amilopektin ini memiliki sifat tidak larut dalam air. (Poedjiadi, 2005)

Kandungan kalori dan komposisi zat gizi dalam 100 gram singkong disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Kalori dan Komposisi Zat Gizi dalam 100 gram Singkong

|  |  |
| --- | --- |
| Komposisi kimia | Jumlah |
| Air (g)  Karbohidrat (g)  Protein (g)  Lemak (g)  Ca (mg)  Fe (mg)  Thiamin B1(mg)  Riboflavin B2 (mg)  Niacin (mg)  Vitamin C (mg)  Energi (kal) | 62,5  34,7  1,2  0,3  33,0  0,7  0,06  0,03  0,6  36  146 |

Ada beberapa macam varietas singkong yang unggul menurut jenisnya, salah satunya adalah Singkong Mentega. Singkong mentega pada umumnya memiliki diameter 3-10 cm dan mempunyai panjang 10-50 cm serta bertangkai sedang, kulit luar berwarna coklat, serta kulit bagian dalam dan daging singkong berwarna kuning. Singkong mentega dapat dipanen dalam waktu 9-10 bulan, singkong ini memiliki kelebihan yaitu jika direbus akan menghasilkan rasa yang manis dan empuk, karena kelebihan inilah singkong mentega kerap kali digunakan dalam pembuatan tape singkong.

Limbah pada pembuatan tape singkong berupa serutan daging singkong merupakan limbah agroindustry yang saat ini pemanfaatanya hanya sebagai pakan ternak. Menurut Rukmana, (1997) menyatakan bahwa limbah singkong pada pembuatan tape ini mempunyai energi (*Total Digestible Nutrients* = TDN) tinggi sehingga memungkinkan digunakan sebagai sumber energi bagi pertumbuhan mikroorganisme dalam proses fermentasi.

## Kapang *Monascus purpureus*

Kapang adalah kelompok mikroba yang tergolong dalam fungi dan merupakan suatu organisme eukariotik yang memiliki ciri-ciri spesifik, diantaranya mempunyai inti sel, memproduksi spora, tidak mempunyai klorofil sehingga tidak dapat melakukan fotosintetis, dapat berkembang biak secara seksual maupun aseksual. Fungi tergolong *Eumycota* dan dapat dibedakan atas 4 kelas yaitu *Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes, dan Deuteromycetes* (Fardiaz, 1992)

*Monascus* adalah jenis kapang dari kelas *Ascomycetes* yang sempurna karena dapat berproduksi secara seksual dengan askospora maupun aseksual yang ditandai dengan pembentukan konidiospora yang muncul dari miselium yang terendam dalam medium. Selain itu juga *Monascus* merupakan kapang yang menggunakan berbagai komponen makanan dari yang sederhana sampai yang kompleks, kapang ini juga memproduksi enzim-enzim seperti α-amilase, β-amilase, glukoamilase, lipase, protease, glukosidase dan ribonuklease. Oleh karena itu kapang ini mampu tumbuh pada bahan yang mengandung pati, protein atau lipid (Fardiaz, 1992).

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

Kingdom : Fungi

Divisio : Amastigomycotina

Subdivisio : Ascomycota

Kelas : Ascomycetes

Subkelas : Plectomycetidae

Ordo : Eurotiales

Famili : Monascaceae

Genus : Monascus

Spesies : Monascus purpureus

*Monascus purpures* merupakan salah satu kapang yang termasuk kelompok *Ascomycetes*. Pada tahun 1884, nama *Monascus* pertama kali diperkenalkan oleh Philippe van Tieghem, dengan nama species *Monascus ruber*. Kemudian pada tahun 1895, Went mengisolasi *Monascus purpureus* dari angkak di Jawa. Keanekaragaman mikroba di Indonesia dan potensinya sebagai penghasil bahan bioaktif belum banyak diungkapkan. Di alam ini spesies yang paling umum digunakan sebagai penghasil angkak adalah *Monascus purpureus*. (Sheu et al, 2000)

*Monascus* memerlukan unsur baik karbon, nitrogen, mineral, vitamin sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya dan didukung dengan faktor lingkungan seperti air, pH, oksigen, RH (kelembaban), dan suhu. Sumber karbon terbaik bagi *Monascus* adalah glukosa, sedangakan sumber nitrogen terbaiknya adalah nitrogen dari bahan organik, dan bahan anorganik yang dapat digunakan adalah ammonium dan nitrat. Substrat yang baik untuk medium fermentasi adalah yang mengandung pati sebagai sumber karbon (C). Pembentukan pigmen dipengaruhi oleh jenis karbohidrat dan perbandingan C dengan N. Bila konsentrasi C dalam media meningkat harus diimbangi dengan peningkatan konsentrasi N yang dibutuhkan untuk mencapai pertumbuhan maksimum dan pembentukan pigmen. (Fardiaz, 1992)

Suhu pertumbuhan untuk *Monascus purpureus* berada dalam kisaran 25oC-32oC sehingga kapang ini termasuk golongan kapang mesofilik. Sedangkan pH yang sesuai untuk pertumbuhannya adalah sekitar 6-6,5. *Monascus* ini bersifat aerobik, yaitu membutuhkan oksigen dalam pertumbuhannya.

*Monascus* ini dapat mengonversi pati menjadi beberapa senyawa metabolit, diantaranya alkohol, antibiotik, antihipertensi, enzim, asam lemak, flavor, asam-asam organik, vitamin dan pigmen. Pigmen merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang berfilamen *Monascus*. Proses pembentukan metabolit sekunder berupa pigmen tersebut melalui suatu jalur yang cukup panjang. Dimulai dengan tahap katabolisme substrat oleh mikroba dengan cara memecah senyawa-senyawa makromolekul yang terkandung dalam substrat. Karbohidrat sebagai salah satu makromolekul merupakan sumber energi dominan bagi mikroba. Karbohidrat dalam bentuk polisakarida dipecah menjadi heksosa atau pentosa. Sumber energi kedua setelah karbohidrat adalah protein. Protein dipecah menjadi asam-asam amino. Tahap berikutnya merupakan pemecahan menjadi senyawa dengan dua atau tiga atom karbon.

Pemecahan glukosa menjadi asam piruvat terjadi melalui lintasan heksosa di fosfat (HDP). Tahap pertama dari lintasan HDP adalah fosforilasi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat yang dikatalisis oleh enzim heksokinase dan memerlukan satu molekul ATP dan ion magnesium. Tahap selanjutnya dikatalisis oleh enzim fosfoglukoisomerase. Fosforilasi fruktosa-6-fosfat menjadi fruktosa 1,6-difosfat dikatalisis oleh enzim fosfofruktokinase dan memerlukan satu molekul ATP dan ion magnesium.

Pemecahan fruktosa 1,6-difosfat menjadi senyawa triosa fosfat yaitu gliseraldehida-3-fosfat dan dihidroksi aseton fosfat. Jalur yang umum dipakai oleh mikroorganisme untuk menghasilkan energi adalah jalur HDP (Fardiaz, 1989). Pada tahap selanjutnya terjadi oksidasi dan fosforilasi gliseraldehida-3-fosfat menjadi asam 1,3 difosfogliserat. Selanjutnya terjadi pemindahan ikatan fosfat ke molekul ADP sehingga terbentuk 1 molekul ATP dan asam 3-fosfogliserat. Isomerasi dan pelepasan satu molekul air menghasilkan asam fosfoenol piruvat yang memiliki ikatan fosfat berenergi tinggi dalam molekulnya. Tahap terakhir dari proses ini adalah pemindahan ikatan fosfat berenergi tinggi dari fosfoenol piruvat ke molekul ADP sehingga terbentuk satu molekul ATP dan asam piruvat (Rachman dalam Megasari, 2012).

Bila nitrogen yang terdapat dalam substrat habis, maka hasil dari glikolisis dialihkan untuk membentuk metabolit sekunder. Asam piruvat dari lintasan HDP mengalami dekarboksilasi oksidatif dengan bantuan enzim piruvat dehidrogenase dan koenzim A membentuk asetil koA dan malonil koA, kemudian membentuk gugus poliketida yang dapat digunakan untuk pembentukan pigmen (Megasari, 2012)

Berikut skema pembentukan pigmen dapat dilihat pada Gambar 2.

|  |
| --- |
| E:\Pictures\skema pigmen.PNG |

Gambar 2. Pembentukan Metabolit Sekunder Pigmen

### Produksi pigmen pada media padat

Pigmen *Monascus* diproduksi secara tradisional pada substrat padat, seperti beras, jagung, ubi, singkong, yang kemudian dikeringkan, ditumbuk, dan dicampurkan pada makanan langsung. Pada substrat padat terjadi derepresi pigmen, karena difusi pigmen intraselluler ke permukaan substrat padat. (Johns dan Stuart, 1991)

Pertumbuhan pada substrat padat dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan diantaranya kelembaban, aerasi atau oksigen, pH, suhu dan kualitas inokulum. Kelembaban merupakan salah satu faktor penting. Pigmen merah yang dihasilkan sangat rendah jika tingkat kelembabannya rendah. Kelembaban yang tinggi akan menghasilkan lebih banyak glukosa karena adanya aktivitas enzim glukoamilase. Kelembaban optimal dalam pembentukan pigmen ini adalah 55%. (Schmitt dan Blanc, 2001)

Pertumbuhan dan metabolisme *Monascus* sangat dipengaruhi oleh aerasi yang diberikan selama pertumbuhan berlangsung. Produksi metabolit sekunder sangat memerlukan aerasi yang baik. Jika oksigen atau aerasi dalam keadaan terbatas, maka produksi etanol akan meningkat sedangkan produksi biomassa dan pigmen akan menurun. Suhu dan pH yang optimum pada pembentukan pigmen angkak ini adalah 30-35oC dan 6. (Hajjaj et al, 1999)

### Produksi pigmen pada media cair

Media cair yang umum dan baik untuk Monascus antara lain pati, dekstrin, glukosa, maltose, galaktosa, dan fruktosa. Jenis sumber karbon yang digunakan sebagai substrat selain mempengaruhi jumlah produksi juga mempengaruhi jenis pigmen yang dihasilkan. (Blanc et al, 1997)

Selain sumber karbon, jenis sumber nitrogen yang digunakan mempengaruhi pertumbuhan dan produksi pigmen, citrinin dan antibiotic. Sumber nitrogen anorganik yang sudah diteliti dan banyak digunakan yaitu NH4Cl, NaNO3 dan NH4NO3. (Dominiguez-Espinosa dalam Tomitius 2004).

Salah satu yang mempengaruhi produksi pigmen pada substrat cair adalah aerasi, maka pada substrat cair ini untuk menjaga persediaan oksigen dilakukan agitasi karena akan mempengaruhi kualitas pertumbuhan dan pembentukan pigmen *Monascus*. Selain itu penggunaan substrat cair yang dikendalikan dengan optimal dapat menghasilkan pigmen secara lebih efesien daripada substrat padat. Produksi pada substrat cair dapat mengurangi lama fermentasi, meningkatkan produktivitas, dan tentunya mengurangi biaya produksi. (Dominiguez-Espinosa dalam Tomitius 2004)

### Pigmen *Monascus purpureus*

Pigmen *Monascus* dibedakan menjadi dua, yaitu pigmen intraseluler (tidak larut air), dan pigmen ekstraseluler (larut air). Pigmen yang diproduksi selama fermentasi ini sekurang- kurangnya ada enam jenis, yaitu 2 jenis pigmen kuning : monascin (C21H26O5) dan ankaflavin (C23H30O5), 2 jenis pigmen orange : rubropunctatin (C21H22O5) dan monascorubin (C23H26O5), dan 2 jenis pigmen merah : rubropunctamin (C21H23NO4) dan monascorubramin (C23H27NO4). Rumus struktur ke enam jenis pigmen tersebut dapat dilihat pada Gambar 3. Pendeteksian pigmen tersebut dapat dilakukan secara spektrofotometri. Pigmen kuning, orange dan merah dapat diditeksi oleh spektrofotometer secara berturut-turut pada panjang gelombang 400, 470, dan 500 nm. (Schmitt dan Blanc, 2001)

|  |
| --- |
| E:\Pictures\struktur pigmen.PNG |

Gambar 3. Rumus struktur pigmen angkak

## Fermentasi

Fermentasi merupakan proses terjadinya pemecahan zat-zat organik secara aerob atau anaerob, peruraian dapat terjadi dari kompleks menjadi sederhana atau sebaliknya dengan bantuan mikroorganisme sehingga menghasilkan energi. Untuk metabolismenya mikroorganisme membutuhkan zat-zat organik yang merupakan sumber energi berupa karbohidrat, protein, lemak, mineral dan zat-zat gizi yang terdapat dalam bahan pangan. (Afrianti, 2008)

Dengan demikan maka istilah fermentasi dapat diuraikan sebagai suatu proses yang menggunakan suatu senyawa (substrat) menjadi senyawa lain (produk) oleh adanya aktifitas mikroorganisme, serta suatu proses yang dapat menghasilkan energi yang melibatkan molekul-molekul organik baik sebagai donor maupun aseptor elektron dan dalam kondisi yang optimum suatu mikroorganisme dapat menghasilkan produk berupa metabolit, enzim dan produk lain seperti biomassa. (Afrianti, 2008)

Berdasarkan kebutuhan akan oksigen maka fermentasi dibagi dalam dua tipe yaitu fermentasi aerobik dan fermentasi anaerobik.

### Fermentasi aerobik

Fermentasi aerobik merupakan suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Untuk hidup mikroorganisme tersebut membutuhkan sumber energi, bahan baku energi yang paling banyak digunakan oleh miroorganisme adalah glukosa. Dengan adanya oksigen beberapa mikroorganisme mencerna glukosa dan menghasilkan air, karbondioksida dan sejumlah besar energi (ATP) yang digunakan untuk tumbuh.

### Fermentasi anaerobik

Beberapa mikroorganisme dapat mencerna bahan energinya tanpa adanya oksigen, jadi hanya sebagian bahan energi tersebut dipecah. Zat-zat produk akhir ini termasuk sejumlah besar asam laktat dan etanol, serta sejumlah kecil asam organik volatile lainnya seperti alkohol dan ester. (Afrianti, 2008).

Menurut Frazier dan Westhoff dalam Irdawati (2010) menjelaskan bahwa produk suatu fermentasi sangat tergantung pada media fermentasi, mikrorganisme, oksigen, bentuk dan ukuran partikel, suhu, pH dan aktifitas air (Aw).

1. Media fermentasi

Media fermentasi ini sangat mempengaruhi keberhasilan suatu fermentasi, media harus mengandung nutrient (zat gizi) untuk pertubuhan, sumber energi dan penyusun substansi sel. Komponen media paling penting yaitu sumber karbon dan nitrogen, karena sel mikrooerganisme dan produk fermentasi sebagian besar tersusun dari kompenen ini.

1. Mikroorganisme

Pada fermentasi harus jelas mikroorganisme apa yang digunakan apakah itu bakteri, kapang, ataupun khamir yang terpenting mikroorganisme tersebut harus mampu tumbuh pada substrat dan mudah beradaptasi dengan lingkungannya. Serta mikroorganisme harus mampu mengeluarkan enzim-enzim penting yang dapat melakukan perubahan yang dikehendaki secara kimia (Afriyanti, 2008).

1. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting dalam mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Masing-masing mikroba mempunyai suhu optimum, minimum dan maksimum untuk pertumbuhannya. Suhu akan berpengaruh terhadap ukuran sel, produk metabolit seperti pigmen dan toksin, kebutuhan zat gizi, reaksi enzimatik, dan komposisi kimia sel.

1. pH

pH merupakan petunjuk aktivitas ion H dalam suatu larutan. Pada proses fermentasi, pH sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba, dan berhubungan erat dengan suhu. Menurut Fardiaz (1992), jika suhu naik, pH optimum untuk pertumbuhannya juga naik.

1. Oksigen

Berdasarkan kemampuannya untuk mempergunakan oksigen bebas. Mikroorganisme dapat diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu : aerob, apabila pertumbuhannya mikroorganisme memerlukan oksigen, anaerob apabila mikroorganisme akan tumbuh dengan baik pada keadaan tanpa oksigen, dan anaerob fakultatif yaitu apabila dapat tumbuh dengan baik pada keadaan ada oksigen bebas maupun tidak ada oksigen bebas.

1. Aktivitas air (Aw)

Aw minimal untuk pertumbuhan berbeda antar mikroorganisme. Secara umum beberapa ragi dan jamur dapat berkembang biak pada aw dibawah 0,86.

1. Bentuk dan ukuran partikel

Keseragaman partikel substrat akan mempermudah penyebaran spora yang diinokulasikan dalam substrat tersebut. Ukuran partikel yang terlalu kasar atau terlalu halus akan mempersulit aerasi.

## Angkak

Angkak adalah produk fermentasi yang dihasilkan oleh kapang *Monascus purpureus*. Sebutan untuk angkak berbeda – beda, masyarakat Cina menyebutnya Ang-Khak, Hong Qu, atau Koji, di Jepang disebut Ang-Khak, Beni, atau Red Koji. Menurut sejarah, angkak berasal dari negeri tirai bambu, Cina. Awalnya angkak dikenal sebagai salah satu bahan obat-obatan Cina. Angkak dipercaya dapat memperlancar pencernaan dan membantu dalam regenerasi sel darah merah. Pada tahun 1590, Li Shih-Chun menyebutkan dalam buku kesehatan Cina bahwa angkak selain sebagai obat juga sebagai pewarna (Tisnadjaja, 2006).

Pigmen angkak ini memiliki warna yang konsisten dan stabil, dapat bercampur dengan pigmen alami lainnya dan dengan bahan makanan, tidak mengandung racun dan tidak karsinogenik. Penggunaan angkak sebagai pewarna telah banyak diaplikasikan khususnya di wilayah Asia. Pada umumnya angkak digunakan untuk mewarnai keju, produk ikan, daging, anggur dan minuman beralkohol (Tisnadjaja, 2006).

Menurut (Sheu et al dalam Timotius, 2004) Penggunaan pigmen angkak telah diterapkan pada beberapa kelompok pangan, yaitu untuk mewarnai produk pangan hewani, minuman, pangan laut (sea food), dan nata de coco. Dosis yang digunakan untuk pewarna pangan hewani berkisar 2000 – 4000 ppm ekstrak *Monascus*. Untuk minuman ringan, yaitu 0,002-0,005% (2-5 ppm). Minuman anggur merah memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 0,2-1% (200-1000 ppm). Untuk nata de coco, *M.purpureus* ditambahkan setelah terbentuk nata, sehingga nata dapat terwarnai.

Prof. Akira Endo dari Departement of Agricultural and Biological Chemistry mengungkapkan bahwa salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan selama proses fermentasi angkak selain pigmen, yaitu senyawa monakolin K, yang memiliki kesamaan struktur dan fungsi dengan lovastatin. Lovastatin adalah senyawa aktif yang secara luas digunakan untuk menurunkan kolesterol dalam darah (Agus, 2011).

Angkak secara signifikan dapat menurunkan LDL dan kolesterol total, serta menurunkan kadar trigliserida setelah digunakan selama 8-12 minggu. Dosis yang umum digunakan adalah 2,4 gram per hari. Menurut Fardiaz dkk (1996) menunjukan bahwa pemberian pigmen angkak sampai dosis tertinggi yaitu 3,913 g/kg berat badan selama 4 minggu kepada tikus jenis Wistar tidak mengakibatkan pembengkakan hati, ginjal, pankreas, dan tidak menyebabkan ketidaknormalan sel limfosit.

Keamanan dalam penggunaan angkak ini perlu diperhatikan terutama adanya kemungkinan metabolit sekunder lain termasuk citrinin, antibiotik dan senyawa penurun kolesterol. Citrinin dikenal sebagai monascidin A yang diduga dapat merusak ginjal dan hati. Jumlah citrinin yang terbentuk selama preoses fermentasi angkak dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti sumber karbon dan nitrogen, jenis Monascus, asam amino, Aw dan temperatur. Oleh karena itu produksi citrinin ini dapat ditekan dengan memperhatikan dan mengendalikan beberapa faktor diatas yang mempengaruhinya (Juzlova et al, dalam Timotius, 2004).

# METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini akan membahas mengenai : (1) Bahan dan Alat Penelitian, (2) Metode Penelitian, (3) Deskripsi Penelitian, dan (4) Jadwal Penelitian

## Bahan dan Alat

### Bahan-bahan yang digunakan

Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan angkak adalah limbah singkong yang digunakan pada pembuatan tape singkong (*Manihot esculenta*) diperoleh dari pengrajin tape singkong di kecamatan Cimenyan Bandung. NH4NO3, KH2PO4, MgSO4.7.H2O, HCl 0,1M atau KOH 0,25M, biakan murni *Monascus purpureus*, aquades, Potato Dextro Agar (PDA).

Bahan kimia yang digunakan untuk analisis adalah alkohol 95%, NaOH 2.5%, NH4OH, KI 5%, AgNO3, Na2S2O3, KIO3, larutan luff schoorl, H2SO4, KI, indikator PP, HCl pekat, NaOH 30%.

### Alat- alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah timbangan digital, batang pengaduk, mikro pipet, tabung reaksi, autoklaf, inkubator, *rotary shaker*, baker glass, *blender*, kompor, bunsen, spatula, jarum ose, pH meter, labu Erlenmeyer, dan *tunnel drier*.

Alat-alat yang digunakan untuk analisis, kertas saring, spektrofotometer visible “genesys 20”, labu kejdhal, labu Erlenmeyer, statif, buret.

## Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian yang dilakukan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

### Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan yang dilakukan adalah menganalisis bahan baku yaitu limbah singkong dengan analisis kadar pati, dan HCN, Serta menentukan media yang digunakan untuk fermentasi apakah itu media padat atau media cair dengan melihat pertumbuhan *Monascus purpureus* yang dilihat dari jumlah sel total *Monascus purpureus*. Tujuan dari penentuan kurva pertumbuhan pada starter adalah untuk mengetahui waktu fermentasi yang tepat untuk mendapatkan starter dimana kapang *Monascus purpureus* berada dalam fase pertumbuhan logaritmik. Starter yang menghasilkan jumlah sel terbaik akan dipilih untuk dilanjutkan di penelitian utama.

Pembuatan starter *Monascus purpureus* dilakukan dengan menyiapkan 2 media yaitu menggunakan media cair dan media padat, NH4NO3, KH2PO4, MgSO4.7H2O dan aquades yang telah disterilisasi sebagai media yang diinokulasi dengan suspensi spora *Monascus purpureus*. Inkubasi dilakukan pada suhu 30oC selama 14 hari, dimana setiap interval waktu 24 jam dilakukan perhitungan jumlah sel kapang *Monascus purpureus*.

### Penelitian Utama

Penelitian utama ini merupakan kelanjutan dari penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh berbagai konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap produksi pigmen yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* dengan menggunakan fermentasi terpilih pada penelitian pendahuluan.

Penelitian utama terdiri dari rancangan perlakuan, rancangan respon, dan deskripsi.

### Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakuan pada penelitian ini menggunakan grafik sederhana yang terdiri dari tiga konsentrasi starter yaitu a1 = 11% (v/b) a2 = 12% (v/b) a3 = 13% (v/b), dan diukur berdasarkan lama fermentasi.

### Rancangan Respon

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian ini adalah :

1. Respon fisik

Respon fisik yang dilakukan pada pembuatan angkak dari limbah singkong pada pembuatan tape singkong adalah mengukur intensitas pigmen merah dengan menggunakan spektrofotometer Visible genesis 20, mengukur absorbansi kelarutan pigmen merah angkak dalam air dengan suhu yang berbeda – beda dan mengukur stabilitas warna merah dengan suhu yang berbeda – beda.

1. Respon Kimia

Respon kimia yang dilakukan pada pembuatan angkak dari limbah singkong pada pembuatan tape singkong adalah mengukur kadar air angkak.

## Deskripsi Penelitian

### Deskripsi Pembuatan kultur *Monascuss purpureus*

Pembuatan kultur murni *M.purpureus* diperbanyak dengan cara menginokulasikan satu ose kultur ke media PDA miring dan diinkubasi pada suhu 30oC selama 7 hari. Kultur siap digunakan.

### Deskripsi penelitian pendahuluan pembuatan starter angkak limbah singkong

Penelitian pendahuluan yang dilakukan adalah menganalisis bahan baku yaitu limbah singkong pada pengolahan tape singkong dengan analisis kadar pati, dan HCN, Serta menentukan fermentasi yang digunakan apakah itu fermentasi padat atau fermentasi cair dengan melihat pertumbuhan *Monascus purpureus* yang dilihat dari jumlah sel hidupnya, kemudian dibuat kurva pertumbuhannya. Selanjutnya fermentasi dengan hasil pertumbuhan *Monascus purpureus* yang terbaik akan dipilih untuk dilanjutkan di penelitian utama.

#### Fermentasi padat

1. Penimbangan

Bahan baku ditimbang yaitu limbah singkong, NH4NO3 0,15% (b/v), KH2PO4 0,25% (b/v), dan MgSO4.7H2O 0,10% (b/v).

1. Pencampuran

Media yang telah ditimbang sebanyak (b/v) kemudian dicampur dengan NH4NO3 0,15% (b/v), KH2PO4 0,25% (b/v), dan MgSO4.7H2O 0,10% (b/v), kemudian ditambahkan air steril, pencampuran ini dilakukan agar media memiliki nutrisi yang dibutuhkan oleh *Monascus purpureus* untuk tumbuh.

1. Pengaturan pH

Media yang telah siap kemudian diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter kemudian diatur sampai pH larutan tersebut 6,0. Pengaturan pH ini dilakukan karena pH sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba, dan pH 6,0 merupakan pH yang optimal untuk pertumbuhan *Monascus purpureus*.

1. Sterilisasi

Media selanjutnya disterilisasi dengan autuklaf pada suhu 121oC selama 15 menit. Sterilisasi ini dilakukan untuk membunuh mikroorganisme patogen dan spora yang akan mengganggu pertumbuhan *Monascus purpureus* jika masih ada.

1. *Tampering*

Media yang telah disterilisasi kemudian didinginkan hingga suhu 30oC. tujuan dari tampering adalah untuk menurunkan suhu media, agar suhunya sesuai dengan suhu optimal untuk pertumbuhan *Monascus purpureus*.

1. Inokulasi

Media yang telah di tampering, kemudian diinokulasi dengan 12% starter *Monascus purpureus* yang berumur 7 hari.

1. Inkubasi

Media yang telah siap, kemudian diinkubasi selama 14 hari di inkubator dengan suhu 30oC.

1. Pengeringan

Angkak hasil fermentasi kemudian dikeringkan dengan menggunakan *tunnel drier* pada suhu 70oC selama 24 jam.

1. Penghancuran

Angkak yang telah dikeringkan kemudian dihancurkan menggunkan blender hingga diperoleh serbuk angkak.

1. Pengayakan

Produk angkak yang telah dihancurkan diayak dengan mengunakan saringan berukuran 80 mesh, tujuannya untuk menghasilkan serbuk angkak yang seragam.

#### Fermentasi cair

1. Penimbangan

Bahan baku yang akan digunakan yaitu limbah singkong ditimbang dengan tepat sesuai dengan yang dibutuhkan.

1. Penghancuran

Bahan yang telah ditimbang kemudian dihancurkan dengan menggunakan blender, dan tidak ditambahkan air.

1. Penyaringan

Bahan yang telah dihancurkan kemudian disaring dengan menggunakan kain saring untuk memisahkan antara ampas dengan pati.

1. Pencampuran

Media yang telah disaring kemudian dicampur dengan larutan nutrient yang terdiri dari NH4NO3 0,15% (b/v), KH2PO4 0,25% (b/v), MgSO4.7H2O 0,10% (b/v) dan pencampuran ini dilakukan agar media memiliki nutrisi yang dibutuhkan oleh *Monascus purpureus* untuk tumbuh.

1. Pengaturan pH

Media yang telah siap kemudian diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter kemudian diatur sampai pH larutan tersebut 6,0. Pengaturan pH ini dilakukan karena pH sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba, dan pH 6,0 merupakan pH yang optimal untuk pertumbuhan *Monascus purpureus*.

1. Sterilisasi

Media selanjutnya disterilisasi dengan autuklaf pada suhu 121oC selama 15 menit. Sterilisasi ini dilakukan untuk membunuh mikroorganisme patogen dan spora yang akan mengganggu pertumbuhan *Monascus purpureus* jika masih ada.

1. *Tampering*

Media yang telah disterilisasi kemudian didinginkan hingga suhu 30oC. tujuan dari tampering adalah untuk menurunkan suhu media, agar suhunya sesuai dengan suhu optimal untuk pertumbuhan *Monascus purpureus*.

1. Inokulasi

Media yang telah di tampering, kemudian diinokulasikan 12% starter *Monascus purpureus* yang berumur 5 hari.

1. Inkubasi

Media yang telah siap, kemudian diinkubasi selama 14 hari di inkubator dengan suhu 30oC. Untuk fermentasi cair ini selama inkubasi harus dibarengi pengocokan dengan menggunakan *shaker,* tujuannya untuk memudahkan aerasi.

### Deskripsi penelitian utama pembuatan angkak limbah singkong

1. Penimbangan

Bahan baku ditimbang yaitu limbah singkong, NH4NO3 0,15% (b/v), KH2PO4 0,25% (b/v), dan MgSO4.7H2O 0,10% (b/v).

1. Pencampuran

Media yang telah ditimbang kemudian dicampur dengan larutan nutrient yang terdiri dari limbah singkong, NH4NO3 0,15% (b/v), KH2PO4 0,25% (b/v), MgSO4.7H2O 0,10% (b/v) dan air steril 95,5%. Pencampuran ini dilakukan agar media memiliki nutrisi yang dibutuhkan oleh *Monascus purpureus* untuk tumbuh.

1. Pengaturan pH

Media yang telah siap kemudian diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter kemudian diatur sampai pH larutan tersebut 6,0. Pengaturan pH ini dilakukan karena pH sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba, dan pH 6,0 merupakan pH yang optimal untuk pertumbuhan *Monascus purpureus*.

1. Sterilisasi

Media selanjutnya disterilisasi dengan autuklaf pada suhu 121oC selama 15 menit. Sterilisasi ini dilakukan untuk membunuh mikroorganisme patogen dan spora yang akan mengganggu pertumbuhan *Monascus purpureus* jika masih ada.

1. *Tampering*

Media yang telah disterilisasi kemudian didinginkan hingga suhu 30oC. tujuan dari tampering adalah untuk menurunkan suhu media, agar suhunya sesuai dengan suhu optimal untuk pertumbuhan *Monascus purpureus*.

1. Inokulasi

Media yang telah di tampering, kemudian diinokulasikan starter angkak dengan konsentrasi 11%, 12%, dan 13%.

1. Inkubasi

Media yang telah siap, kemudian diinkubasi selama 14 hari di inkubator dengan suhu 30oC.

1. Pengeringan

Angkak hasil fermentasi kemudian dikeringkan dengan menggunakan *tunnel drier* pada suhu 70oC selama 24 jam.

1. Penghancuran

Angkak yang telah dikeringkan kemudian dihancurkan menggunkan blender hingga diperoleh serbuk angkak.

1. Pengayakan

Produk angkak yang telah dihancurkan diayak dengan mengunakan saringan berukuran 80 mesh, tujuannya untuk menghasilkan serbuk angkak yang seragam.

## Diagram Alir Penelitian

### Diagram Alir Penelitian Pendahuluan

|  |
| --- |
|  |

Gambar 4. Diagram Alir Pembuatan Starter Angkak Media Padat

|  |
| --- |
|  |

Gambar 5. Diagram Alir Pembuatan Starter Angkak Media Cair

### Diagram Alir Penelitian Utama

|  |
| --- |
|  |

Gambar 6. Diagram Alir Penelitian Utama

## Jadwal Penelitian

Tabel 2. Jadwal Penelitian

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Kegiatan | Bulan ke-1 | | | | Bulan ke-2 | | | | Bulan ke-3 | | | |
| 1 | Pembelian bahan baku dan alat yang dibutuhkan untuk penelitian |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 2 | Pengajuan penyewaan labororium dan alat sewaan |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3 | Peremajaan mikroba |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 4 | Pengujian Bahan Baku |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 5 | Pembuatan starter |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 6 | Penelitian Pendahuluan |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 7 | Penelitian Utama |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 8 | Pengolahan data hasil analisis dan pembuatan laporan |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

# HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini menguraikan mengenai: (1) Penelitian Pendahuluan dan (2) Penelitian Utama.

## Penelitian Pendahuluan

### Analisa Bahan Baku

Penelitian pendahuluan yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan pati, dan HCN pada bahan baku limbah singkong. Selain itu dilakukan pula pengamatan dengan membuat kurva pertumbuhan *Monascus purpureus* pada substrat cair dan substrat padat yang dapat dilihat pada Gambar 8.

Berdasarkan hasil analisis kandungan pati, dan HCN pada limbah singkong yang didapat dari Desa Cimenyan Kabupaten Bandung dapat dilihat pada tabel 3.

Table 3. Analisis kandungan pati dan HCN pada limbah singkong

|  |  |
| --- | --- |
| Komponen | Kadar (%) |
| HCN | 0,0% |
| Pati | 33.065% |

Jenis medium fermentasi merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap produksi pigmen angkak. Medium fermentasi angkak yang baik adalah media dengan kandungan amilosa yang tinggi dan amilopektin yang rendah. Menurut Fardiaz, 1992 pada umumnya kapang dapat menggunakan berbagai komponen makanan, dari yang sederhana sampai kompleks. Kebanyakan kapang memproduksi enzim hidrolitik, misalnya *amylase, pectinase, proteinase* dan *lipase*. Oleh karena itu, kapang dapat tumbuh pada makanan – makanan yang mengandung pati, protein dan lipid.

Sumber nutrisi dan kondisi lingkungan sangat mempengaruhi produk fermentasi yang dihasilkan. *Monascus purpureus* membutuhkan unsur baik karbon, nitrogen, vitamin, mineral. Substrat yang baik untuk medium fermentasi adalah bahan yang mengandung pati sebagai sumber karbon (C). Limbah singkong memiliki potensi untuk digunakan sebagai substrat fermentasi bagi *Monascus purpureus,* karena kandungan pati dari limbah singkong ini cukup tinggi yaitu 33,065%.

Menurut data Direktorat gizi, Depkes 2009 singkong segar mempunyai komposisi kimiawi terdiri dari kadar air 60%, pati 35%, serat kasar 2,5%, protein 1%, lemak 0,5% dan kadar abu 1%, sehingga singkong merupakan sumber karbohidrat dan serat makanan, meskipun hanya sedikit mengandung protein. Walaupun singkong dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan, dan limbahnya pun dapat digunakan sebagai bahan pakan hewan, pada jenis singkong tertentu juga dapat menimbulkan keracunan, karena singkong mengandung senyawa yang berpotensi racun, yaitu linamarin dan lotaustralin, keduanya termasuk golongan glikosida sianogenik.

Hidrogen sianida (HCN) atau asam sianida merupakan racun pada singkong dan akan menjadi toksin bila dikonsumsi pada kadar HCN lebih dari 50 ppm. Singkong dikelompokan menjadi dua golongan yaitu singkong jenis manis dan pahit. Singkong jenis manis memiliki kadar sianida yang rendah (< 50 mg/kg singkong) sedangkan jenis pahit memiliki kadar sianida yang tinggi yaitu (> 50 mg/kg singkong). Berdasarkan hasil analisis kadar HCN pada limbah singkong yang digunakan sebagai bahan utama angkak ini adalah sebesar 0,0% sehigga aman untuk dikonsumsi.

### Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme

|  |
| --- |
| *Hasil gambar untuk grafik pertumbuhan mikroorganisme* |

Gambar 7 Grafik Pertumbuhan Mikroorganisme.

Pertumbuhan mikroorganisme terdiri dari beberapa fase diantaranya fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase logaritmik, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan statis, fase menuju kematian dan fase kematian.

Table 4. Jumlah spora *Monascus purpureus* pada substrat cair

|  |  |
| --- | --- |
| Hari | Jumlah Spora (Spora / ml) |
| 0  1  2  3  4  5  6  7  8  9  10  11  12  13  14 | 1 x 106  5,0 x 106  4,36 x 106  4,83 x 106  1,61 x 107  1,75 x 107  2,63 x 107  2,94 x 107  2,90 x 107  2,85 x 107  2,26 x 107  7,13 x 106  4,35 x 106  3,45 x 106  8,67 x 105 |

Table 5. Jumlah spora *Monascus purpureus* pada substrat padat

|  |  |
| --- | --- |
| Hari | Jumlah Spora (Spora / ml) |
| 0  1  2  3  4  5  6  7  8  9  10  11  12  13  14 | 1 x 106  3,88 x 106  5,43 x 106  8,52 x 106  1,20 x 107  1,89 x 107  2,78 x 107  3,08 x 107  3,195 x 107  3,18 x 107  2,67 x 107  1,65 x 107  1,22 x 107  7,56 x 106  5,6 x 105 |

|  |
| --- |
|  |

Gambar 8.Grafik Pertumbuhan *M. purpureus* substrat cair dan substrat padat

Kurva pertumbuhan *Monascus purpureus* dapat dilihat pada Gambar 8 untuk substrat cair dan substrat padat. Berdasarkan gambar tersebut, fase adaptasi dari *Monascus purpureus* terjadi dari hari ke-0 sampai hari ke-3 untuk yang menggunakan substrat cair sedangkan untuk substrat padat fase adaptasi terjadi pada hari ke-0 sampai hari ke-2. Di kedua substrat ini *Monascus purpureus* mengalami sedikit penurunan jumlah sel pada saat fase adaptasi, hal tersebut dikarenakan *Monascus purpureus* membutuhkan waktu untuk menyesuaikan diri dengan substrat dan lingkungan yang baru sehingga belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintetis. Kemudian fase pertumbuhan awal pada substrat cair terjadi pada hari ke-3 sampai hari ke-4, sedangkan pada substrat padat terjadi pada hari ke-2 sampai hari ke-3 pada fase ini sel mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah karena baru selesai tahap penyesuaian diri.

Fase logaritmik pada substrat cair terjadi pada hari ke-4 sampai hari ke-6, sedangkan pada substrat padat terjadi pada hari ke-3 sampai hari ke-6 pada fase ini sel membelah dengan cepat sehingga kurva meningkat dengan tajam. Pada fase ini pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrient, juga kondisi lingkungan termasuk suhu, selain itu pada fase ini sel membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan dengan fase lainnya sehingga selnya sangat sensitif terhadap keadaan lingkungan.

Fase pertumbuhan diperlambat pada substrat cair dan padat terjadi pada hari ke-6 sampai hari ke-7, pada fase ini jumlah sel menurun dikarenakan jumlah nutrisi dalam medium sudah berkurang. Fase stasioner pada substrat cair dan padat terjadi pada hari ke-7 sampai hari ke-9, pada fase ini jumlah sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati dan ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah mulai habis, oleh karena itu pada fase ini sel – sel menjadi tahan terhadap keadaan ekstrem seperti panas, dingin, radiasi dan bahan kimia. Fase kematian pada substrat cair dan padat terjadi pada hari ke-9, pada fase ini nutrien di dalam medium sudah habis sehingga sel mengalami kematian dan semakin lama jumlah sel yang mati akan semakin banyak.

Starter merupakan media adaptasi untuk mikroba sebelum ditumbuhkan ke dalam media pertumbuhan yang sebenarnya. Waktu pemindahan starter ke dalam media pertumbuhan yang sebenarnya haruslah tepat supaya didapatkan hasil yang optimal. Waktu pemindahan yang tepat adalah pada saat starter berada pada fase pertumbuhan logaritmik sebelum fase stasioner. Menurut Palo, dkk (1960) dalam Rismunandar (2002) menyatakan bahwa umumnya suspensi spora yang diinokulasikan ke dalam media fermentasi harus berkisar antara 106-108 cfu/ml. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bahwa pada fermentasi starter hari ke-5, *Monascus purpureus* berada pada fase pertumbuhan logaritmik dengan jumlah spora sebanyak 1,75 x 107 spora/ml untuk substrat cair dan jumlah spora 1,89 x 107 spora/ml untuk substrat padat. Dilihat dari hal tersebut maka dalam penelitian ini digunakan starter dengan lama fermentasi 5 hari. Sehingga berdasarkan pengamatan dan jumlah spora yang dihasilkan pada substrat cair dan substrat padat maka dalam penelitian utama substrat yang digunakan adalah substrat padat karena jumlah spora yang dihasilkan lebih banyak daripada substrat cair.

## Pennelitian Utama

### Intensitas pigmen merah angkak limbah singkong

Hasil analisis intensitas pigmen merah angkak limbah singkong dengan menggunakan variasi konsentrasi starter *Monascus purpureus* yaitu 11%, 12%, dan 13% dapat dilihat pada Gambar 9.

|  |
| --- |
|  |

Gambar 9.Intensitas pigmen merah angkak limbah singkong

Gambar 9 menunjukan bahwa intensitas pigmen merah pada angkak limbah singkong dengan variasi konsentrasi starter *Monascus purpureus* yang berbeda terjadi kenaikan intensitas pigmen merah dimana semakin tinggi konsentrasi starter dan lama waktu fermentasi yang digunakan maka semakin tinggi intensitas warna yang dihasilkan.

Konsentrasi starter 13% dan lama fermentasi selama 13 hari memberikan hasil intensitas pigmen merah yang paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya dengan lama waktu fermentasi yang sama yaitu 14 hari. Hal ini sesuai dengan penelitian Irawati dalam Irdawati (2010) bahwa jumlah starter yang tepat akan menghasilkan hasil yang baik dalam proses fermentasi, serta kadar pigmen akan semakin meningkat dengan meningkatnya waktu fermentasi sampai waktu fermentasi tertentu.

Konsentrasi starter dapat memepengaruhi produksi pigmen, hal ini berkaitan dengan ketersediaan nutrisi di dalam medium untuk produksi pigmen dan banyaknya jumlah mikroba di dalam medium. Seperti yang diungkapkan Irdawati (2010) apabila jumlah starter yang diberikan 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 kedalam media lebih atau terlalu banyak juga akan menyebabkan produksi pigmen tidak maksimum dengan banyaknya starter menyebabkan mikroba yang terdapat dalam media semakin banyak dan akan terjadi perebutan nutrisi dalam medium tersebut. Jumlah starter yang tepat akan memberikan hasil yang baik dalam proses fermentasi.

Pertumbuhan jamur *Monascus purpureus* menjadi indikator kunci dalam sintesis metabolit pigmen dan lainnya. Suhu pertumbuhan untuk *Monascus* berada dalam kisaran 25ºC – 32º C sehingga kapang ini termasuk dalam golongan kapang mesofilik. Sedangkan pH yang sesuai untuk pertumbuhannya adalah sekitar 6-6,5, dan bersifat aerobik yaitu membutuhkan oksigen dalam pertumbuhannya (Hesseltine, 1965 dalam Jenie, Helianti dan Fardiaz, 1994). Yongsmith (1999) menjelaskan bahwa selama tahap pertama periode fermentasi, jamur memanfaatkan sumber karbon dan nitrogen dari substrat untuk metabolit primer, biokonversi, energi, karbon dioksida, dan air. Pada tahap terakhir, jamur menggunakan produk yang dihasilkan pada tahap pertama untuk memproduksi metabolit sekunder. Oleh karena itu, metabolit sekunder, seperti pigmen, citrinin dan mevinolin tidak diperlukan untuk pertumbuhan sel dan produksinya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan dibentuk pada akhir masa pertumbuhan atau awal fase stationer.

Proses pembentukan metabolit pigmen tersebut melalui suatu jalur yang cukup panjang. Dimulai dengan tahap katabolisme substrat oleh mikroba dengan cara memecah senyawa – senyawa makromelokul yang terkandung dalam substrat. Karbohidrat dalam bentuk polisakarida dipecah menjadi heksosa atau pentose dengan menggunakan enzim yang dihasilkan oleh *Monascus* yaitu amylase, glukoamilase, glukosidase menjadi heksosa atau pentosa. Sumber energi kedua setelah karbohidrat adalah protein. Protein dipecah menjadi asam – asam amino oleh enzim protease.

Pemecahan glukosa menjadi asam piruvat terjadi melalui lintasan heksosa di fosfat (HDP). Jalur yang umum dipakai oleh mikroorganisme untuk menghasilkan energi adalah jalur HDP (Fardiaz, 1989). Bila nitrogen yang terdapat dalam substrat habis, maka hasil dari glikolisis dialihkan untuk membentuk metabolit sekunder. Asam piruvat dari lintasan HDP mengalami dekarboksilasi oksidatif dengan bantuan enzim piruvat dehidrogenase dan koenzim A membentuk asetil koA dan malonil koA, kemudian membentuk gugus poliketida yang dapat digunakan untuk pembentukan pigmen (Megasari, 2012).

Beras merupakan substrat terbaik untuk produksi pigmen. Keunggulan ini terutama karena komposisinya yang kompleks dan struktur mikroskopisnya yang baik untuk penetrasi hifa atau difusi pigmen karena dapat memproduksi pigmen merah secara optimum (Timotius, 2004). Hal ini senada dengan hasil penelitian Kasim dkk (2005), dari 19 isolat *M. purpureus* yang ditumbuhkan pada beras putih pera, intensitas pigmen merah yang dihasilkan yakni berkisar antara 0,40 sampai 4,50. Hal ini dapat dikatakan bahwa substrat beras lebih optimum dalam menghasilkan pigmen merah dibandingkan dengan substrat limbah singkong yang hanya menghasilkan absorbansi pigmen merah tertinggi sebesar 3,07 pada konsentrasi 13% dengan lama fermentasi 13 hari.

Ketidak optimuman produksi pigmen merah pada substrat limbah singkong ini dikarenakan adanya kandungan amilopektin yang cukup tinggi. Umumnya pati mengandung 15–30% amilosa, 70–85% amilopektin dan 5–10% material antara. Struktur dan jenis material antara tiap sumber pati berbeda tergantung sifat-sifat botani sumber pati tersebut (Greenwood dkk., 1979). Pada singkong amilopektin yang terkandung yaitu 83%. Kandungan amilopektin pada substrat dapat mempengaruhi produksi pigmen *Monascus purpureus*, hal ini disebabkan karena pertumbuhan *Monascus purpureus* terhalang oleh melekatnya butiran amilopektin yang satu dengan yang lainnya. Menurut Tisnajaya dalam Amelia (2014), dengan terjadinya gumpalan – gumpalan akibat lengketnya butiran yang mengandung amilopektin maka pertumbuhan jamur akan menjadi tidak rata. Hal ini menyebabkan proses fermentasi tidak bisa berlangsung secara optimal karena transfer massa (khususnya distribusi oksigen dan nutrisi) akan terhambat dan meninggalkan banyak bahan baku yang tidak terfermentasikan dengan baik.

Pembentukan pigmen merah akan lebih mendukung jika nilai pH media di bawah 5 (Jenie dkk., 1994). Pada nilai pH yang rendah terdapat lebih banyak gugus =NH yang berasal dari pemecahan protein. Menurut Carels dan Shepherd (1977) pigmen merah terbentuk dari penggantian atom oksigen pada cincin piranoid dari monascorubrin atau rubropunctatin (pigmen jingga) dengan gugus = NH. Sedangkan dikaitkan dengan pH media yaitu 6 gugus =NH yang terdapat dalam media tidak tersedia dalam jumlah yang cukup banyak untuk menggantikan atom O pada cincin paranoid dari pigmen jingga, sehingga pigmen merah yang dihasilkan lebih sedikit.

### Intensitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong terhadap Kelarutan Pigmen dalam Air

Karakteristik pigmen yang baik menurut Winarno dan Rahayu (1994) meliputi kelarutan yang tinggi, warna yang stabil, mudah dicerna, dan tidak bersifat karsinogenik. Penggunaan pewarna yang memiliki kelarutan yang tinggi dalam air dapat menentukan kualitas akhir makanan, yaitu dengan dihasilkannya warna makanan yang seragam dan kenampakannya yang lebih menarik.

Grafik tiap masing – masing konsentrasi terhadap kelarutan dalam air dengan berbagai suhu dapat dilihat pada Gambar 12 sampai 14.

Gambar 10,Intensitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong terhadap Kelarutan Pigmen dalam Air pada konsentrasi 11%

Gambar 11.Intensitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong terhadap Kelarutan Pigmen dalam Air pada konsentrasi 12%

Gambar 12.Intensitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong terhadap Kelarutan Pigmen dalam Air pada konsentrasi 13%

Menurut Koswara (2009), zat warna merah yang dihasilkan dari fermentasi *Monascus purpureus* adalah zat warna yang mempunyai senyawa kimia non polar sedangkan air adalah suatu senyawa polar. Oleh karena itu zat warna tersebut kurang begitu larut dalam air. Senyawa-senyawa tersebut terdiri dari *monascin* dan *ankaflavin* yang berwarna kuning, *rubopunctatin* dan *monascorubin* yang berwarna merah, serta *rubopunctamine* dan *monascorubramin* yang berwarna ungu (Hendry dan Houghton, 1992).

Pigmen Monascus purpureus mudah larut dalam etanol dan sedikit larut dalam air. Kumasaki et al menjelaskan bahwa monascorubrin larut dalam ether, methanol, ethanol, benzene, chloroform, asam asetat danaseton akan tetapi tidak larut dalam air dan petroleum eter. Kelarutan dalam ethanol untuk pigmen monascorubrin (orange) pada pH 3.0 sampai 4.0, pigmen merah pada pH 5.0 sampai 6.0 dan pigmen merah keunguan pada pH 7.0 sampai 9.0. Menurut Su dan Huang bahwa pigmen angkak yang larut dalam 70% ethanol stabil di suhu yang sangat panas sampai suhu 100oC, dan menunjukkan stabilitas panas yang sangat baik pada kondisi neurtal atau alkali.

Dilihat dari Gambar 13 dapat disimpulkan bahwa konsentrasi starter tidak mempengaruhi kelarutan pigmen angkak dalam air. Pigmen angkak yang pada fermentasinya menggunakan substrat limbah singkong yang kelarutannya tidak selalu lebih tinggi dibandingkan dengan pigmen angkak yang pada fermentasinya memiliki konsentrasi starter lebih tinggi. Hal tersebut dikarenakan pigmen angkak yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* dalam starter yang berbeda memiliki struktur kimia dan tingkat kemurnian yang sama. Struktur kimia yang sama dari pigmen angkak yang dihasilkan akan mengakibatkan sifat ke non-polarannya sama sehingga kelarutannya dalam air pun akan sama pada setiap perlakuan.

Kelarutan pigmen angkak dalam air dapat ditingkatkan dengan melakukan modifikasi pigmen angkak oleh asam amino. Menurut Koswara (2009), hal tersebut terjadi karena pembentukan senyawa kompleks antara zat warna tersebut dengan asam amino. Sifat dari asam amino atau senyawa-senyawa protein umumnya mudah larut dalam air termasuk senyawa kompleksnya, maka dengan demikian zat warna tersebut mudah larut dalam air.

### Kadar air angkak limbah singkong dengan variasi konsentrasi starter dan lama fermentasi

Gambar 13.Kadar Air Angkak dengan Konsentrasi Starter yang Berbeda

Kadar air awal (sejalan dengan kelembaban) dalam menghasilkan pigmen alami angkak merupakan salah satu faktor penting. Pigmen merah yang dihasilkan sangat rendah jika kadar air atau tingkat kelembabannya rendah. Kelembaban awal sangat penting bagi pigmentasi, karena menentukan peningkatan aktivitas glukoamilase. Kelembaban dipengaruhi juga oleh kadar air bahan. Kadar air yang tinggi akan menghasilkan lebih banyak glukosa karena adanya aktivitas enzim tersebut. Kelembaban optimalnya adalah 56%. Dari hasil analisis diperoleh kadar air tertinggi angkak yang dihasilkan dari fermentasi limbah singkong ini berkisar 8 – 8,5% .

Hasil tersebut menunjukan bahwa perbedaan konsentrasi starter dalam media fermentasi angkak limbah singkong ini tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap kadar air dalam angkak yang diproduksi oleh *Monascus purpureus*. Hal tersebut diduga disebabkan oleh keseragaman proses pengeringan dengan mengunakan *tunnel drier*, yaitu dilakukan pengeringan selama 1 hari pada suhu 70oC. Produk pangan yang memiliki kadar air dalam jumlah rendah maka masa simpannya lebih lama. Hal ini dikarenakan kadar air yang rendah dapat meminimalisir kerusakan produk oleh mikroorganisme

### Stabilitas pigmen merah angkak limbah singkong terhadap suhu

Gambar 14. Stabilitas Pigmen Angkak pada Suhu yang Berbeda konsentrasi 11%

Gambar 15. Stabilitas Pigmen Angkak pada Suhu yang Berbeda konsentrasi 12%

Gambar 16. Stabilitas Pigmen Angkak pada Suhu yang Berbeda konsentrasi 13%

Pengolahan bahan pangan dilakukuan pada suhu yang berbeda-beda tergantung dari jenis bahan pangan dan produk akhir yang akan dihasilkan. Atas dasar itu untuk makanan yang ditambah pewarna perlu dilakukan uji kestabilan zat pewarna terhadap suhu sehingga dapat digunakan pada bahan pangan pangan yang tepat. Penurunan intensitas zat warna dihitung berdasarkan persen zat warna yang tersisa sehingga semakin tinggi persen zat warna yang tersisa maka zat warna tersebut penurunan intensitasnya semakin kecil

Angkak memiliki warna yang konsisten tetapi kurang stabil terhadap pengaruh fisik dan kimia seperti panas, sinar-UV dan sinar matahari, dapat bercampur dengan pewarna alami lainnya dengan bahan makanan, tidak toksik dan bukan karsinogen (Hesseltine, 1965 & Stainkraus, 1983 dalam Jenie, Helianti dan Fardiaz, 1994). Pernyataan tersebut didukung oleh Koswara (2009) dan Helianti (1994), yang melaporkan bahwa pengaruh suhu akan dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi dan perubahan struktur pigmen sehingga terjadi pemucatan. Sedangkan Jenie dkk (1997), menyatakan bahwa mekanisme kerusakan angkak akibat pemanasan belum jelas, tetapi dapat diduga bahwa kerusakan juga terjadi pada gugus kromofor akibat adanya energi kinetik dari panas.

Hasil dari analisa stabilitas pigmen angkak terhadap suhu menunjukan tidak adanya pengaruh stabilitas pigmen angkak terhadap konsentrasi starter yang berbeda – beda dan lamanya fermentasi. Berdasarkan grafik diatas menunjukan semakin tinggi suhu yang digunakan maka semakin menurun intensitas pigmen angkak. Penurunan intensitas pigmen diduga diakibatkan oleh rusaknya pigmen karena panas sehingga intensitas warna menurun. Suhu dan lama pemanasan mengakibatkan dekomposisi dan perubahan struktur pigmen angkak sehingga terjadi pemucatan. Perlakuan inkubasi dengan meningkatkan suhu yang semakin tinggi mampu menimbulkan peningkatan energi kinetik yang semakin besar serta mengakibatkan kerusakan gugus kromofor. (Zubaidah, 2014)

# KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini menguraikan mengenai (1) Kesimpulan dan (2) Saran.

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat peningkatan produksi pigmen merah yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* pada variasi konsentrasi starter 11%, 12% dan 13% terhadap limbah singkong, dimana konsentrasi 13% dengan lama fermentasi 13 hari merupakan kondisi optimal untuk pembentukan pigmen angkak *Monascus purpureus* dengan absorbansi sebesar 3,070.

2. Produksi pigmen merah terus mengalami peningkatan seiring dengan lamanya fermentasi, dimana lama fermentasi yang optimal angkak limbah singkong ini adalah 13 hari.

## Saran

1. Pada penelitian selanjutnya pigmen angkak ini diuji kadar citrinin yang merupakan metabolit sampingan yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* pada substrat tertentu.
2. Penelitian dapat dilakukan dengan konsentrasi starter dengan range yang lebih luas.
3. Pada penelitian selanjutnya pigmen angkak ini hendaknya diaplikasikan pada makanan dan diuji kestabilan warnanya pada lama penyimpanannya yang lebih panjang.

# DAFTAR PUSTAKA

Afrianti, Leni. 2008. **Teknologi Pengawetan Pangan**. Penerbit Alfabeta. Bandung

Amelia. Lia, Yanti Hamdiyati dan Kusnadi. 2014. **Pengaruh Konsentrasi starter Monascus purpureus Terhadap Produksi Pigmen Pada Substrat Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus*)**. Formica Online, Volume 1, Nomor 1. Pendidikan Biologi. UPI

Andreas, Romulo dan Sri Nurheni, Palupi. 2012. **Kajian Penggunaan Ekstrak Angkak dalam Pembuatan Low Fat Fruity Yogurt Sebagai Pangan Fungsional**. Institut Pertanian bogor. Bogor.

Blanc, P.J., Loret, M.O., and Goma, G. 1997. **Pigments and citrinin production during cultures of Monascus in liquid and solid media**. Advance in Solid State Fermentation 32 : 393-406.

Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan**. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Fardiaz, S. 1998. **Fisiologi Fermentasi**. Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.

Hajjaj, H., Blanc P.J., Groussac,E., Goma, G.,Uribelarrea, J.L., and Loubiere, P, 1999. **Improvement of red pigment/citronin production ratio as function of environmental conditions by Monascus rubber**. Biotech. Bioengineer. 64 (4) : 497-501.

Handayani, A. 2011. **Pengaruh Konsentrasi Inokulum Monascus purpureus dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Pigmen Merah pada Angkak Dedak Padi**. Skripsi. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.

Hendrawan, Boby. 2011. **Pengaruh Penambahan Air Pada Media Biji Durian Varietas Manalagi Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Pigmen Oleh Monascus sp. KJR2**. Proposal Skripsi Teknologi Pangan Universitas Katolik Widya Mandala. Surabaya.

Hendry,G.A.P. and Houghton, J.D. 1992. **Natural Food Colorants**. AVI United States of America 115 Fifth Avenue. New York.

Irdawati, E. 2010. **Pengaruh Konsentrasi starter dan Lama fermentasi Terhadap Pigmen yang Dihasilkan Oleh *Monascus purpureus* Pada Limbah Ubi Kayu**. *Skripsi S1*, Padang: Jurusan Biologi Fakultas Matetatika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNP

Jenie, B.S.L., Helianti, dan S. Fardiaz, 1994. **Pemanfaatan ampas tahu, onggok dan dedak untuk produksi pigmen merah oleh Monascus purpureus**. Buletin Teknologi dan Industri Pangan 5 (2): 22-29

Johns, M.R., and Stuart, D.M. 1991. **Production of pigments by Monascus purpureus in solid culture**. Journal of Industrial Microbiology 8: 23.

Kasim E, Sri Astuti dan Novik N. 2005. **Karakterisasi Pigmen dan Kadar Lovastatin Beberapa Isolat Monascus purpureus**. Biodiversitas ISSN: 1412-033X Volume 6, Nomor 4. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta.

Koswara, Sutrisno. 2009. **Pewarna Alami : Produksi dan Penggunaannya**. Ebookpangan.com

Megasari, Aprilia 2010. **Pigmen Warna Yang Dihasilkan Oleh Fungi**. Makalah Mikologi Program Studi Biologi Universitas Negeri Yogyakarta.

Nufus, Hayatun (2013) **Pengaruh Konsentrasi Inokulum Monascus purpureus Terhadap Produksi Pigmen Pada Substrat Tepung Biji Durian (Durio zibethinus)**. S1 Skripsi, Universitas Pendidikan Indonesia.

Poejiadi, Anna. 2005. **Dasar-Dasar Biokimia**. Universitas Indonesia Press. Jakarta.

Purwanto, Agus. 2011. **Produksi Angkak Oleh Monascus purpureus Dengan Menggunakan Beberapa Varietas Padi yang Berbeda Tingkat Kepulenannya**. *Skripsi S1* Universitas Widya Mandala. Madiun.

Ridawati, Jenie.S.L dan P.R Winiati. 1994. **Produksi Pigmen oleh *M. purpureus* pada Media Limbah Cair Tapioka, Ampas tapioca dan Ampas Tahu**. Bul. Tek. Dan Industri Pangan,Vol.V n.3. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta-IPB.

Rukmana. 1997. **Ubi kayu budidaya dan Pascapanen.** Kanisius,Yogyakarta**.**

Schmitt M., and Blanc P. 2001. **Microbial Biotechnology Part 2**. Innovative Aspects in Biotechnology of Eukaryotes. Investpress Co., Sofia.

Tedjautama E, dan Zubaidah E. 2014. **Peningkatan Produksi Pigmen Merah Angkak Tinggi Lovastatin Menggunakan Ko-Kultur *Monascus purpureus* dan *Saccharomyces cerevisiae***. Jurnal Pangan dan Agroindustri vol. 2 no 4 p.78-88. Universitas Brawijaya.

Timotius, K.H. 2004. **Produksi Pigmen oleh *M. purpureus***. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. Vol 15 (1).

Tisnadjaja, D. 2006. **Bebas Kolesterol Dan Demam Berdarah Dengan Angkak***.* Penerbit Penebar Swadaya. Depok.

Triana, E dan Nurhidayat, N. 2009. **Pengaruh Sacharomyces cerevisiae terhadap kadar Lovasantin dalam Angkak yang dihasilkan dari Fermentasi Beras oleh Monascus purpureus JMBA**. Berk. Panel. Hayati 14:203-207.

Winarno, F.G. dan T.S. Rahayu, 1994. **Bahan Makanan Tambahan untuk Makanan dan Kontaminan**. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.

Yongsmith, B., Kitprechavanich, V., Chitradon, L., Chaisrisook, C., Budda, N. 2000. **Color mutants of Monascus sp. KB9 and their comparative glucoamylases on rice solid culture**. J. Mol. Catalysis B: Enzymatic. 10 : 263-272.

**Lampiran 1.** **Analisa Kadar Pati**

* Penentuan konsentrasi Na2S2O3

Mula – mula ditimbang 30 – 40 mg KIO3 dilarutkan kedalam 25 ml aquades, lalu titrasi dengan Na2S2O3 hingga kuning jerami kemudian tambahkan indikator amilum sebanyak 1 ml dan titrasikan kembali dengan Na2S2O3 sampai warna biru hilang

* Pembuatan larutan sebelum inversi

Ditimbang 2 gram sampel yang dilarutkan dengan aquades hingga tanda batas (larutan A), untuk larutan sebelum inversi diambil 10 ml larutan A kemudian ditambah 15 ml aquades dan 10 ml larutan luff school, lalu panaskan selama 10 menit (refluks), lalu dinginkan dengan air mengalir kemudian setelah dingin ditambahkan 10 ml H2SO4 6N dan 1 gram KI setelah itu dititrasi dengan Na2S2O31N baku sampai TAT kuning jerami kemudian tambahkan indikator amilum sebanyak 1 ml dan titrasikan kembali dengan Na2S2O3 sampai warna biru hilang.

* Pembuatan larutan setelah inversi I

10 ml larutan A ditambah 15 ml aquades dan 10 ml HCl 9.5N atau 15 ml HCl pekat, larutan tersebut dipanaskan selama 15 menit (refluks), lalu didimginkan dengan air mengalir kemudian ditambahkan indicator PP dan NaOH 30% hingga berwarna merah muda, jika kelebihan NaOH tambahkan HCl 9.5 N hingga netral. Lalu larutan tersebut ditambahkan aquades hingga 100 ml (larutan B). lalu diambil 10 ml larutan B ditambah 15 ml aquades dan 10 ml larutan luff schoorl , lalu panaskan selama 10 menit (refluks), lalu dinginkan dengan air mengalir kemudian setelah dingin ditambahkan 10 ml H2SO4 6N dan 1 gram KI setelah itu dititrasi dengan Na2S2O31N baku sampai TAT kuning jerami kemudian tambahkan indikator amilum sebanyak 1 ml dan titrasikan kembali dengan Na2S2O3 sampai warna biru hilang.

* Pembuatan larutan setelah Inversi II

Dua gram sampel ditambah 200 ml aquades dan 15 ml HCl pekat, kemudian panaskan selama 2,5 jam (jaga volume total tetap 200 ml) dengan penambahan aquades, lalu dinginkan dengan air mengalir. Setelah dingin tambahkan indicator PP dan NaOH 30 % hingga merah, jika kelebihan NaOH tambahkan HCl 9.5 N hingga netral. Lalu tambahkan aquades hingga tanda batas (larutan C). kemudian kedalam labu Erlenmeyer masukan 10 ml larutan C, 15 ml aquades dan 10 ml larutan Luff Schoorl lalu panaskan selama 10 menit (refluks) kemudian didinginkan dengan air mengalir. Setelah dingin tambahkan 15 H2SO4 6N dan 1.5 gram KI. Lalu titrasi dengan Na2S2O3  1N baku hingga TAT kuning jerami kemudian tambahkan indikator amilum sebanyak 1 ml dan titrasikan kembali dengan Na2S2O3 sampai warna biru hilang

|  |
| --- |
| N Na2S2O3  =  ml Na2S2O3  =  kadar gula sebelum inversi =  kadar gula setelah inversi I =  kadar gula setelah inversi II=  kadar pati = [ %gula setelah inversi II -% gula setelah inversi I] x 0.9 |

Lampiran 2. Analisis Kadar HCN

* Timbang 10-20 gr sampel halus (20 mesh), tambahkan 100 ml aquades dlm labu Kjeldahl, rendam 2 jam
* Tambah lagi 100ml aquades kemudian distilasi dengan uap (steam). Tampung distilat dalam erlenmeyer berisi 20ml NaOH 2.5%
* Setelah distilat mencapai 150ml, tambah 8ml NH4OH, 5ml KI 5% dan dititrasi dengan 0.02N AgNO3 sampai terjadi kekeruhan (letakkan kertas karbon hitam dibawah labu titrasi).

|  |
| --- |
| % HCN =  N AgNO3 = 0,05  BE AgNO3 = 27 |

Lampiran 3. Metode perhitungan sel total (*counting chamber*) AOAC (1995)

Starter kapang dikocok baik-baik supaya sel-sel dapat tersebar sama rata dalam cairan. Jika perlu encdrkan. Ruang hitung ditutup dengan menggunakan kaca tutup kemudian teteskan suspensi dengan pipet kecil pada pinggir kaca tutup, dengan sendirinya tetesan ini akan mengalir ke bawah kaca tutup dan mengisi ruang hitung.

Jumlah sel yang dihitung yaitu yang berada dalam 5 persegi besar (16 persegi kecil). Jumlah sel-sel dalam tiap ml adalah sama dengan :

|  |
| --- |
| Sel/ml = |

Lampiran 4. Analisis Intensitas Pigmen Merah (Kasim, 2005)

• Serbuk angkak ditimbang 1 gram.

• Dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian Ditambah 5 mL alcohol 97%.

• Digoyang dalam shaker 200 rpm selama 1 jam.

• Disaring dengan kertas saring.

• Diambil filtratnya.

• Diukur absorbansi dengan spektrofotometer pada λ 500 nm.

Lampiran 5. Analisis Kelarutan Pigmen Merah dalam Air (Kasim, 2005)

Air sebanyak 10 ml dalam tabung reaksi masing-masing dipanaskan pada suhu 25oC, 60oC, 80oC, dan 100oC pada gelas kimia berisi air, kemudian ke dalam masing-masing tabung ditambahkan bubuk pigmen angkak sebanyak 60 mg sambil diaduk selama 30 detik. Larutan pigmen dengan segera disaring dan filtrat yang diperoleh diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.

Lampiran 6. Uji Kestabilan Pigmen Merah Terhadap Suhu

Sebanyak 1 gram serbuk angkak dilarutkan dalam 100 ml air dan selanjutnya disaring. Larutan dipindahkan kedalam 3 tabung reaksi yang masing – masing berisi 10 ml larutan filtrate. Masing – masing selanjutnya disimpan di suhu 27oC, 70oC dan 100oC selama 1 jam dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500nm.

Lampiran 7. Kadar Air (AOAC 1995)

Sampel sebanyak 1 - 2 g dimasukan ke dalam cawan yang telah diketahui bobotnya. Kemudian dikeringkan di dalam oven bersuhu 100-105oC sampai bobot konstan. Setelah itu didinginkan di dalam desikator dan ditimbang.

|  |
| --- |
| 𝑘𝑎𝑑𝑎𝑟 𝑎𝑖𝑟 (%)= |

Lampiran 8. Kebutuhan Bahan Baku

1. Kebutuhan Untuk Analisis Pendahuluan

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Bahan** | **Analisis** | **Gram** | **Harga (Rp)** | **Total (Rp)** |
| Limbah singkong | Uji HCN | 5 gram x 2 | 55.000 x 2 | 110.000 |
| Limbah singkong | Kadar Pati | 2 gram x 2 | 35.000 x 2 | 70.000 |
| Starter angkak | *Counting Chamber* | 28 sampel x 3 | - | - |
| **Total** |  |  |  | **180.000** |

1. Kebutuhan Bahan Baku dan Bahan Penunjang Penelitian Pendahuluan dan Penelitian Utama

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Bahan** | **Gram** | **Jumlah** | **Harga (Rp)** |
| Biakan *Monascus purpureus* |  | 1 tabung | 175.000 |
| Limbah singkong | 100 x 84 | 8,4 kg | - |
| NH4NO3 | 25,2 | 1000/gram | 25.000 |
|  |
| KH2PO4 | 33,67 | 1000/gram | 35.000 |
|  |
| MgSO4.7H2O | 16,8 | 1000/gram | 17.000 |
|  |
| **Total** |  |  | **252.000** |

1. Kebutuhan untuk Analisis Respon

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Bahan** | **Analisis** | **Gram** | **Total Kebutuhan** | **Harga (Rp)** | **Total**  **(Rp)** |
| Angkak | Uji Intensitas pigmen merah | 1 x 42 x 2 | 84 gram | 2500 x 42 x 2 | 210.000 |
| Angkak | Uji kelarutan pigmen dalam air | 0.06 x 42 x 2 | 5.04 gram | 2500 x 42 x 2 | 210.000 |
| Angkak | Uji kestabilan pigmen pada suhu | 1 x 42 x 2 | 84 gram | 2500 x 42 x 2 | 210.000 |
| Angkak | Kadar Air | 1 x 42 x 2 | 84 gram | 2.500 x 42 x 2 | 210.000 |
| **Total** |  |  | **173.04 gram** |  | **630.000** |

1. Jumlah Anggaran Penelitian

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | Kebutuhan | Total (Rp) |
| 1. | Analisis bahan baku | 180.000 |
| 2. | Bahan baku dan bahan penunjang | 252.000 |
| 3. | Analisis respon | 630.000 |
| 4. | Sewa laboratorium | 250.000 |
|  | Total | 1.312.000 |

Lampiran 9. Hasil Analisis Bahan Baku Limbah Singkong

1. **Kadar Pati**

Blanko Luff Schoorl

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Titrasi** | **Vawal** | **Vakhir** | **Vtitrasi** |
| I | 0 | 13,50 ml | 13,50 ml |
| II | 0 | 14,70 ml | 14,70 ml |

V Na2S2O3 = 13,50 + 14,70

2

= 14,10 ml

Volume sebelum inversi (Larutan A)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Titrasi** | **Vawal** | **Vakhir** | **Vtitrasi** |
| I | 0 | 11,80 ml | 11,80 ml |
| II | 0 | 11,00 ml | 11,00 ml |

V larutan A : 11,80 + 11,00

2

= 11,4 ml

ml Na2S2O3 =

=

= 2.7 ml

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| a  b  c | d 2  x 2.7  e 3 | 4.8  x  7.2 |

X = d +

= 4,8 +

= 4,8 + 1,68

= 6,48 mg

**Kadar gula sebelum inversi** =

=

=

= 3,08 %

Volume setelah inversi I (Larutan B)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Titrasi** | **Vawal** | **Vakhir** | **Vtitrasi** |
| I | 0 | 12,00 ml | 12,00 ml |
| II | 0 | 10,10 ml | 10,10 ml |

V larutan B : 12,00 + 10,10

2

= 11,55 ml

ml Na2S2O3 =

=

= 2.7 ml

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| a  b  c | d 2  x 2.55  e 3 | 4.8  x  7.2 |

X = d +

= 4.8 +

= 4.8 + 1.32

= 6.12 mg

**Kadar gula setelah inversi I** =

=

=

= 30.29 %

Volume setelah inversi II (Larutan C)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Titrasi** | **Vawal** | **Vakhir** | **Vtitrasi** |
| I | 0 | 3,20 ml | 3,20 ml |
| II | 0 | 3,40 ml | 3,40 ml |

V larutan C : 3,20 + 3,40

2

= 3,3 ml

ml Na2S2O3 =

=

= 10.8 ml

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| a  b  c | d 10  x 10.8  e 11 | 25.0  x  27.6 |

X = d +

= 25 +

= 25 + 2.08

= 27.08 mg

**Kadar gula setelah inversi II** =

=

=

= 67.02 %

**Kadar Pati** :

= ( % gula setelah inversi II - % gula setelah inversi I ) x 0.9

= ( 67.02 % - 30.29 % ) x 0.9

= 33.065 %

Table 6. Mg glukosa pada setiap titrasi ml Na2S2O3 (0,1 N)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| mL Na2S2O3(0,1 N) | mg Glukosa | mL Na2S2O3(0,1 N) | mg Glukosa |
| 1 | 2,4 | 13 | 33,0 |
| 2 | 4,8 | 14 | 35,7 |
| 3 | 7,2 | 15 | 38,5 |
| 4 | 9,7 | 16 | 38,5 |
| 5 | 12,2 | 17 | 44,2 |
| 6 | 14,7 | 18 | 47,1 |
| 7 | 17,2 | 19 | 50,0 |
| 8 | 19,8 | 20 | 53,0 |
| 9 | 22,4 | 21 | 56,0 |
| 10 | 25,0 | 22 | 59,1 |
| 11 | 27,6 | 23 | 62,2 |
| 12 | 30,3 | 24 | - |

1. **Kadar HCN**

Diketahui :

Wsampel  = 5,132 gram

N AgNO3 = 0,05 N

BE HCN = 27

**blanko**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Titrasi** | **Vawal** | **Vakhir** | **Vtitrasi** |
| I | 0 | 0,15 ml | 0,15 ml |
| II | 0 | 0,15 ml | 0,15 ml |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Titrasi** | **Vawal** | **Vakhir** | **Vtitrasi** |
| I | 0 | 0,15 ml | 0,15 ml |
| II | 0 | 0,15 ml | 0,15 ml |

%HCN = (Vtitrasi – Vblanko) x N AgNO3 x BE x

= ( 0,15 -0,15 ) x 0,05 x 27 x

%HCN = 0.00

Lampiran 10.Hasil Perhitungan Pertumbuhan Monascus purpureus

Tabel 7.Jumlah spora *Monascus purpureus* substrat cair

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Hari | Jumlah Spora/ml | |
| 0 | U1 = 1,00 x 106  U2 = 1,00 x 106  U3 = 1,00 x 106 | Rata – Rata = 1 x 106 |
| 1 | U1 = 5,45 x 106  U2 = 4,45 x 106  U3 = 5,1 x 106 | Rata – Rata = 5,0 x 106 |
| 2 | U1 = 4,15 x 106  U2 = 4,7 x 106  U3 = 4,25 x 106 | Rata – Rata = 4,36 x 106 |
| 3 | U1 = 4,45 x 106  U2 = 4,25 x 106  U3 = 5,8 x 106 | Rata – Rata = 4,83 x 106 |
| 4 | U1 = 1,48 x 107  U2 = 1,66 x 107  U3 = 1,7 x 107 | Rata – Rata = 1,61 x 107 |
| 5 | U1 = 1,56 x 107  U2 = 1,615 x 107  U3 = 2,07 x 107 | Rata – Rata = 1,75 x 107 |
| 6 | U1 = 2,32 x 107  U2 = 2,56 x 107  U3 = 2,90 x 107 | Rata – Rata = 2,63 x 107 |
| 7 | U1 = 2,96 x 107  U2 = 2,86 x 107  U3 = 3,02 x 107 | Rata – Rata = 2,94 x 107 |
| 8 | U1 = 2,96 x 107  U2 = 2,80 x 107  U3 = 3,00 x 107 | Rata – Rata = 2,90 x 107 |
| 9 | U1 = 2,62 x 107  U2 = 2,41 x 107  U3 = 3.98 x 107 | Rata – Rata = 2,85 x 107 |
| 10 | U1 = 2,38 x 107  U2 = 2,19 x 107  U3 = 2,2 x 107 | Rata – Rata = 2,26 x 107 |
| 11 | U1 = 9,35 x 106  U2 = 6,8 x 106  U3 =5,25 x 106 | Rata – Rata = 7,13 x 106 |
| 12 | U1 = 5,25 x 106  U2 = 4,35 x 106  U3 = 4,0 x 106 | Rata – Rata = 4,53 x 106 |
| 13 | U1 = 3,2 x 106  U2 = 3,5 x 106  U3 = 3,65 x 106 | Rata – Rata = 3,45 x 106 |
| 14 | U1 = 1,00 x 106  U2 = 7,5 x 105  U3 = 8,5 x 105 | Rata – Rata = 8,67 x 105 |

Gambar 17.Grafik pertumbuhan M. purpureus substrat cair

**Perhitungan Hari ke 0 :**

**Sel total**

Dik: jumlah sel = 2

Pengenceran 10-1

**Perhitungan**

Sel total =

**=**

**= sel/ml**

Tabel 8.Jumlah spora Monascus purpureus substrat padat

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Hari | Jumlah Spora/ml | |
| 0 | U1 = 1,00 x 106  U2 = 1,00 x 106  U3 = 1,00 x 106 | Rata – Rata = 1,00 x 106 |
| 1 | U1 = 3,96 x 106  U2 = 4,00 x 106  U3 = 3,75 x 106 | Rata – Rata = 3,88 x 106 |
| 2 | U1 = 5,25 x 106  U2 = 5,25 x 106  U3 = 5,8 x 106 | Rata – Rata = 5,43 x 106 |
| 3 | U1 = 1,15 x 107  U2 = 6,35 x 106  U3 = 7,7 x 106 | Rata – Rata = 8,52 x 106 |
| 4 | U1 = 9,35 x 106  U2 = 1,14 x 107  U3 = 1,52 x 107 | Rata – Rata = 1,20 x 107 |
| 5 | U1 = 1,68 x 107  U2 = 1,99 x 107  U3 = 2,005 x 107 | Rata – Rata = 1,89 x 107 |
| 6 | U1 = 2,9 x 107  U2 = 2,83 x 107  U3 = 2,62 x 107 | Rata – Rata = 2,78 x 107 |
| 7 | U1 = 3,02 x 107  U2 = 3,12 x 107  U3 =3,08 x 107 | Rata – Rata = 3,08 x 107 |
| 8 | U1 = 3,18 x 107  U2 = 3,29 x 107  U3 =3,12 x 107 | Rata – Rata = 3,195 x 107 |
| 9 | U1 = 3,2 x 107  U2 = 3,1 x 107  U3 =3,24 x 107 | Rata – Rata = 3,18 x 107 |
| 10 | U1 = 2,61 x 107  U2 = 2,74 x 107  U3 =2,66 x 107 | Rata – Rata = 2,67 x 107 |
| 11 | U1 = 1,6 x 107  U2 = 1,66 x 107  U3 = 1,69 x 107 | Rata – Rata = 1,65 x 107 |
| 12 | U1 = 1,07 x 107  U2 = 1,1 x 107  U3 = 1,48 x 107 | Rata – Rata = 1,22 x 107 |
| 13 | U1 = 9,8 x 106  U2 = 5,1 x 106  U3 = 7,8 x 106 | Rata – Rata = 7,56 x 106 |
| 14 | U1 = 5,7 x 106  U2 = 4,8 x 106  U3 = 6,3 x 106 | Rata – Rata = 5,6 x 106 |

Figure 18.Grafik pertumbuhan M. purpureus substrat padat

**Perhitungan Hari ke 0 :**

**Sel total**

Dik: jumlah sel = 2

Pengenceran 10-1

**Perhitungan**

Sel total =

**=**

**= sel/ml**

Gambar 19.Grafik pertumbuhan *M. purpureus* substrat cair dan padat

Lampiran 11.Hasil Analisis Pigmen Angkak Limbah Singkong

Table 9. Data Absorbansi Pigmen Merah yang Dihasilkan oleh *Monascus purpureus*

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Hari | Ulangan 1 | | Ulangan 2 | | Rata-rata |
| Abs | Abs | Abs | Abs | Abs |
| **11%** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 0.031 | 0.031 | 0.033 | 0.033 | 0.032 |
| 2 | 0.060 | 0.060 | 0.050 | 0.050 | 0.055 |
| 3 | 0.060 | 0.060 | 0.068 | 0.068 | 0.064 |
| 4 | 0.070 | 0.070 | 0.11 | 0.11 | 0.09 |
| 5 | 0.104 | 0.104 | 0.110 | 0.110 | 0.107 |
| 6 | 0.356 | 0.356 | 0.396 | 0.396 | 0.376 |
| 7 | 0.532 | 0.532 | 0.550 | 0.550 | 0.541 |
| 8 | 0.613 | 0.613 | 0.659 | 0.659 | 0.636 |
| 9 | 0.886 | 0.886 | 0.864 | 0.864 | 0.875 |
| 10 | 1.811 | 1.811 | 1.823 | 1.823 | 1.817 |
| 11 | 1.589 | 1.589 | 1.627 | 1.627 | 1.608 |
| 12 | 1.441 | 1.441 | 1.529 | 1.529 | 1.485 |
|  | 13 | 1.159 | 1.159 | 1.227 | 1.227 | 1.193 |
|  | 14 | 1.005 | 1.005 | 1.163 | 1.163 | 1.084 |
| **12%** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 0.016 | 0.016 | 0.012 | 0.012 | 0.014 |
| 2 | 0.049 | 0.049 | 0.051 | 0.051 | 0.050 |
| 3 | 0.090 | 0.090 | 0.089 | 0.089 | 0.089 |
| 4 | 0.152 | 0.152 | 0.155 | 0.155 | 0.153 |
| 5 | 0.196 | 0.196 | 0.201 | 0.201 | 0.198 |
| 6 | 1.036 | 1.036 | 1.033 | 1.033 | 1.034 |
| 7 | 1.096 | 1.096 | 1.099 | 1.099 | 1.097 |
| 8 | 1.120 | 1.120 | 1.122 | 1.122 | 1.121 |
| 9 | 1.274 | 1.274 | 1.278 | 1.278 | 1.276 |
| 10 | 1.292 | 1.292 | 1.291 | 1.291 | 1.291 |
| 11 | 1.474 | 1.474 | 1.472 | 1.472 | 1.473 |
| 12 | 1.354 | 1.354 | 1.357 | 1.357 | 1.355 |
|  | 13 | 1.255 | 1.255 | 1.250 | 1.250 | 1.252 |
|  | 14 | 1.201 | 1.201 | 1.205 | 1.205 | 1.203 |
| **13%** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 0.040 | 0.040 | 0.080 | 0.080 | 0.060 |
| 2 | 0.062 | 0.062 | 0.060 | 0.060 | 0.061 |
| 3 | 0.082 | 0.082 | 0.084 | 0.084 | 0.083 |
| 4 | 0.184 | 0.184 | 0.180 | 0.180 | 0.182 |
| 5 | 0.214 | 0.214 | 0.208 | 0.208 | 0.211 |
| 6 | 1.074 | 1.074 | 1.078 | 1.078 | 1.076 |
| 7 | 1.422 | 1.422 | 1.430 | 1.430 | 1.426 |
| 8 | 1.718 | 1.718 | 1.716 | 1.716 | 1.717 |
| 9 | 1.810 | 1.810 | 1.810 | 1.810 | 1.81 |
| 10 | 1.943 | 1.943 | 1.954 | 1.954 | 1.948 |
| 11 | 2.415 | 2.415 | 2.417 | 2.417 | 2.416 |
| 12 | 2.894 | 2.894 | 2.895 | 2.895 | 2.894 |
|  | 13 | 3.071 | 3.071 | 3.069 | 3.069 | 3.070 |
|  | 14 | 2.913 | 2.913 | 2.917 | 2.917 | 2.915 |

Gambar 20. Intensitas pigmen merah pada konsentrasi 11%

Gambar 21. Intensitas pigmen merah pada konsentrasi 12%

Gambar 22. Intensitas pigmen merah pada konsentrasi 13%

Tabel 10.Data Absorbansi Kelarutan Pigmen Merah Angkak dalam Air

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 11% | 27oC | 0.00 | 0.008 | 0.009 | 0.013 | 0.012 | 0.015 | 0.017 | 0.023 | 0.022 | 0.028 | 0.026 | 0.028 | 0.021 | 0.029 | 0.029 |
| 0.00 | 0.008 | 0.011 | 0.011 | 0.015 | 0.016 | 0.016 | 0.021 | 0.026 | 0.028 | 0.024 | 0.027 | 0.023 | 0.029 | 0.031 |
| Rata - rata | **0.00** | **0.008** | **0.010** | **0.012** | **0.013** | **0.015** | **0.016** | **0.022** | **0.024** | **0.028** | **0.025** | **0.027** | **0.022** | **0.029** | **0.030** |
| 60oC | 0.00 | 0.018 | 0.017 | 0.022 | 0.025 | 0.025 | 0.028 | 0.025 | 0.031 | 0.033 | 0.032 | 0.034 | 0.035 | 0.034 | 0.038 |
| 0.00 | 0.017 | 0.015 | 0.029 | 0.025 | 0.026 | 0.028 | 0.027 | 0.026 | 0.031 | 0.032 | 0.032 | 0.035 | 0.036 | 0.038 |
| Rata - rata | **0.00** | **0.017** | **0.016** | **0.025** | **0.025** | **0.025** | **0.028** | **0.026** | **0.029** | **0.032** | **0.032** | **0.033** | **0.035** | **0.035** | **0.038** |
| 80oC | 0.00 | 0.021 | 0.019 | 0.030 | 0.028 | 0.033 | 0.032 | 0.033 | 0.038 | 0.038 | 0.038 | 0.037 | 0.038 | 0.041 | 0.049 |
| 0.00 | 0.022 | 0.015 | 0.028 | 0.034 | 0.031 | 0.033 | 0.033 | 0.034 | 0.038 | 0.034 | 0.037 | 0.036 | 0.039 | 0.050 |
| Rata - rata | **0.00** | **0.021** | **0.017** | **0.029** | **0.031** | **0.032** | **0.032** | **0.033** | **0.036** | **0.038** | **0.036** | **0.037** | **0.037** | **0.040** | **0.049** |
| 100oC | 0.00 | 0.024 | 0.034 | 0.035 | 0.035 | 0.037 | 0.037 | 0.040 | 0.043 | 0.047 | 0.055 | 0.061 | 0.062 | 0.059 | 0.066 |
| 0.00 | 0.028 | 0.035 | 0.035 | 0.039 | 0.037 | 0.039 | 0.045 | 0.043 | 0.049 | 0.051 | 0.062 | 0.057 | 0.059 | 0.062 |
| Rata - rata | **0.00** | **0.026** | **0.034** | **0.035** | **0.037** | **0.037** | **0.038** | **0.042** | **0.043** | **0.048** | **0.053** | **0.061** | **0.059** | **0.059** | **0.064** |
| 12% | 27oC | 0.00 | 0.006 | 0.010 | 0.009 | 0.012 | 0.015 | 0.020 | 0.023 | 0.022 | 0.028 | 0.030 | 0.035 | 0.047 | 0.045 | 0.048 |
| 0.00 | 0.010 | 0.008 | 0.011 | 0.015 | 0.016 | 0.018 | 0.021 | 0.026 | 0.028 | 0.034 | 0.037 | 0.043 | 0.046 | 0.044 |
| Rata - rata | **0.00** | **0.008** | **0.009** | **0.010** | **0.013** | **0.015** | **0.019** | **0.022** | **0.024** | **0.028** | **0.032** | **0.036** | **0.045** | **0.045** | **0.046** |
| 60oC | 0.00 | 0.018 | 0.011 | 0.025 | 0.027 | 0.027 | 0.027 | 0.026 | 0.034 | 0.030 | 0.032 | 0.037 | 0.037 | 0.045 | 0.045 |
| 0.00 | 0.017 | 0.010 | 0.025 | 0.025 | 0.026 | 0.025 | 0.026 | 0.036 | 0.035 | 0.034 | 0.039 | 0.042 | 0.046 | 0.049 |
| Rata - rata | **0.00** | **0.017** | **0.010** | **0.025** | **0.026** | **0.025** | **0.026** | **0.026** | **0.032** | **0.032** | **0.033** | **0.038** | **0.039** | **0.045** | **0.047** |
| 80oC | 0.00 | 0.023 | 0.011 | 0.030 | 0.029 | 0.030 | 0.027 | 0.031 | 0.036 | 0.040 | 0.0340 | 0.040 | 0.042 | 0.045 | 0.050 |
| 0.00 | 0.019 | 0.015 | 0.028 | 0.030 | 0.030 | 0.031 | 0.035 | 0.036 | 0.036 | 0.041 | 0.040 | 0.045 | 0.046 | 0.054 |
|  | Rata - rata | **0.00** | **0.021** | **0.013** | **0.029** | **0.029** | **0.030** | **0.029** | **0.033** | **0.036** | **0.038** | **0.040** | **0.040** | **0.044** | **0.049** | **0.052** |
|  | 100oC | 0.00 | 0.027 | 0.024 | 0.035 | 0.032 | 0.038 | 0.039 | 0.044 | 0.041 | 0.049 | 0.057 | 0.059 | 0.063 | 0.065 | 0.074 |
| 0.00 | 0.025 | 0.029 | 0.035 | 0.035 | 0.036 | 0.038 | 0.040 | 0.039 | 0.047 | 0.055 | 0.057 | 0.065 | 0.055 | 0.070 |
|  | Rata - rata | **0.00** | **0.026** | **0.027** | **0.035** | **0.034** | **0.037** | **0.038** | **0.042** | **0.040** | **0.048** | **0.056** | **0.058** | **0.064** | **0.060** | **0.072** |
|  | 27oC | 0.00 | 0.008 | 0.014 | 0.009 | 0.012 | 0.015 | 0.017 | 0.023 | 0.022 | 0.028 | 0.030 | 0.035 | 0.042 | 0.045 | 0.042 |
| 0.00 | 0.008 | 0.015 | 0.011 | 0.015 | 0.016 | 0.018 | 0.021 | 0.026 | 0.028 | 0.032 | 0.037 | 0.045 | 0.046 | 0.044 |
|  | Rata - rata | **0.00** | **0.008** | **0.015** | **0.010** | **0.013** | **0.015** | **0.016** | **0.022** | **0.024** | **0.028** | **0.031** | **0.036** | **0.043** | **0.045** | **0.043** |
| 13% | 60oC | 0.00 | 0.018 | 0.022 | 0.024 | 0.029 | 0.025 | 0.029 | 0.027 | 0.028 | 0.033 | 0.033 | 0.038 | 0.039 | 0.044 | 0.048 |
| 0.00 | 0.016 | 0.024 | 0.026 | 0.028 | 0.025 | 0.027 | 0.025 | 0.030 | 0.032 | 0.031 | 0.039 | 0.039 | 0.046 | 0.047 |
|  | Rata - rata | **0.00** | **0.017** | **0.023** | **0.025** | **0.028** | **0.025** | **0.028** | **0.026** | **0.029** | **0.032** | **0.032** | **0.038** | **0.039** | **0.045** | **0.047** |
|  | 80oC | 0.00 | 0.020 | 0.030 | 0.029 | 0.031 | 0.030 | 0.033 | 0.033 | 0.035 | 0.039 | 0.040 | 0.040 | 0.043 | 0.049 | 0.051 |
| 0.00 | 0.022 | 0.031 | 0.030 | 0.033 | 0.031 | 0.031 | 0.033 | 0.037 | 0.037 | 0.040 | 0.040 | 0.045 | 0.050 | 0.053 |
|  | Rata - rata | **0.00** | **0.021** | **0.030** | **0.029** | **0.032** | **0.030** | **0.032** | **0.033** | **0.036** | **0.038** | **0.040** | **0.040** | **0.044** | **0.049** | **0.052** |
|  | 100oC | 0.00 | 0.026 | 0.037 | 0.035 | 0.036 | 0.038 | 0.038 | 0.043 | 0.044 | 0.048 | 0.058 | 0.061 | 0.062 | 0.065 | 0.064 |
| 0.00 | 0.026 | 0.035 | 0.035 | 0.038 | 0.037 | 0.038 | 0.042 | 0.042 | 0.048 | 0.060 | 0.062 | 0.068 | 0.067 | 0.067 |
|  | Rata - rata | **0.00** | **0.026** | **0.036** | **0.035** | **0.037** | **0.037** | **0.038** | **0.042** | **0.043** | **0.048** | **0.059** | **0.061** | **0.065** | **0.066** | **0.066** |

Gambar 23. Absorbansi kelarutan pigmen dalam air pada suhu 27oC

Gambar 24. Absorbansi kelarutan pigmen dalam air pada suhu 60oC

Gambar 25. Absorbansi kelarutan pigmen dalam air pada suhu 80oC

Gambar 26. Absorbansi kelarutan pigmen dalam air pada suhu 100oC

Table 11. Data Absorbansi Stabilitas Pigmen Merah Angkak Limbah Singkong Terhadap Suhu

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 11% | 27oC | 0.00 | 0.007 | 0.010 | 0.011 | 0.012 | 0.023 | 0.037 | 0.041 | 0.048 | 0.055 | 0.064 | 0.065 | 0.058 | 0.051 | 0.045 |
| 0.00 | 0.007 | 0.009 | 0.011 | 0.011 | 0.027 | 0.039 | 0.044 | 0.047 | 0.053 | 0.062 | 0.065 | 0.056 | 0.050 | 0.043 |
| **Rata - rata** | 0.00 | **0.007** | **0.0095** | **0.011** | **0.0115** | **0.025** | **0.035** | **0.0425** | **0.0475** | **0.054** | **0.063** | **0.065** | **0.057** | **0.0505** | **0.044** |
| 70oC | 0.00 | 0.006 | 0.009 | 0.008 | 0.010 | 0.021 | 0.033 | 0.036 | 0.040 | 0.043 | 0.056 | 0.054 | 0.050 | 0.047 | 0.038 |
| 0.00 | 0.007 | 0.007 | 0.008 | 0.010 | 0.025 | 0.031 | 0.035 | 0.042 | 0.044 | 0.057 | 0.052 | 0.053 | 0.045 | 0.036 |
| **Rata - rata** | 0.00 | **0.0065** | **0.008** | **0.008** | **0.010** | **0.023** | **0.032** | **0.0355** | **0.041** | **0.0435** | **0.0565** | **0.053** | **0.0515** | **0.046** | **0.035** |
| **% zat warna tersisa** | 0.00 | **92.85** | **84.21** | **72.72** | **86.95** | **92.0** | **92.43** | **83.52** | **86.31** | **80.55** | **89.68** | **81.53** | **90.35** | **91.08** | **79.54** |
| 100oC | 0.00 | 0.005 | 0.005 | 0.006 | 0.007 | 0.020 | 0.029 | 0.031 | 0.036 | 0.040 | 0.050 | 0.047 | 0.043 | 0.043 | 0.033 |
| 0.00 | 0.006 | 0.006 | 0.006 | 0.009 | 0.022 | 0.030 | 0.029 | 0.032 | 0.040 | 0.052 | 0.047 | 0.044 | 0.041 | 0.035 |
|  | **Rata - rata** | 0.00 | **0.0055** | **0.0055** | **0.006** | **0.008** | **0.021** | **0.0295** | **0.030** | **0.034** | **0.040** | **0.051** | **0.047** | **0.0435** | **0.042** | **0.034** |
|  | **% zat warna tersisa** | 0.00 | **85.71** | **57.89** | **54.54** | **69.56** | **84.0** | **84.28** | **70.58** | **71.57** | **74.07** | **80.95** | **72.30** | **76.31** | **83.16** | **77.27** |
|  | 27oC | 0.00 | 0.008 | 0.010 | 0.011 | 0.012 | 0.027 | 0.040 | 0.043 | 0.051 | 0.058 | 0.070 | 0.064 | 0.055 | 0.051 | 0.047 |
| 0.00 | 0.009 | 0.010 | 0.011 | 0.010 | 0.031 | 0.039 | 0.046 | 0.049 | 0.056 | 0.069 | 0.065 | 0.053 | 0.048 | 0.045 |
|  | **Rata - rata** | **0.00** | **0.0085** | **0.010** | **0.011** | **0.011** | **0.029** | **0.0395** | **0.0445** | **0.050** | **0.057** | **0.0695** | **0.0645** | **0.054** | **0.0495** | **0.046** |
| 12% | 70oC | 0.00 | 0.008 | 0.009 | 0.009 | 0.011 | 0.026 | 0.030 | 0.032 | 0.036 | 0.045 | 0.054 | 0.051 | 0.045 | 0.042 | 0.038 |
| 0.00 | 0.007 | 0.007 | 0.008 | 0.010 | 0.029 | 0.031 | 0.034 | 0.036 | 0.047 | 0.054 | 0.049 | 0.047 | 0.042 | 0.037 |
|  | **Rata - rata** | **0.00** | **0.0075** | **0.008** | **0.0085** | **0.0105** | **0.0275** | **0.0305** | **0.033** | **0.036** | **0.046** | **0.054** | **0.050** | **0.046** | **0.042** | **0.0375** |
|  | **% zat warna tersisa** | 0.00 | **88.23** | **80.0** | **77.27** | **95.45** | **94.82** | **77.21** | **74.16** | **72.0** | **80.70** | **77.69** | **77.51** | **85.18** | **84.84** | **81.52** |
|  | 100oC | 0.00 | 0.006 | 0.006 | 0.007 | 0.009 | 0.021 | 0.027 | 0.031 | 0.033 | 0.038 | 0.049 | 0.047 | 0.043 | 0.040 | 0.036 |
| 0.00 | 0.004 | 0.006 | 0.006 | 0.009 | 0.022 | 0.025 | 0.029 | 0.033 | 0.036 | 0.047 | 0.047 | 0.044 | 0.041 | 0.035 |
|  | **Rata - rata** | **0.00** | **0.005** | **0.006** | **0.0065** | **0.009** | **0.0215** | **0.026** | **0.030** | **0.033** | **0.037** | **0.038** | **0.047** | **0.0435** | **0.0405** | **0.0355** |
|  | **% zat warna tersisa** | 0.00 | **58.82** | **60.0** | **59.09** | **81.81** | **74.13** | **65.82** | **67.41** | **66.0** | **64.91** | **54.67** | **72.86** | **80.55** | **81.81** | **77.17** |
| 13% | 27oC | 0.00 | 0.009 | 0.014 | 0.016 | 0.018 | 0.028 | 0.048 | 0.052 | 0.056 | 0.067 | 0.083 | 0.083 | 0.084 | 0.085 | 0.080 |
| 0.00 | 0.008 | 0.014 | 0.015 | 0.017 | 0.031 | 0.048 | 0.051 | 0.057 | 0.065 | 0.084 | 0.084 | 0.084 | 0.086 | 0.080 |
| **Rata - rata** | 0.00 | **0.0085** | **0.014** | **0.0155** | **0.0175** | **0.0295** | **0.048** | **0.0515** | **0.0565** | **0.066** | **0.0835** | **0.0835** | **0.084** | **0.0855** | **0.080** |
| 70oC | 0.00 | 0.008 | 0.013 | 0.012 | 0.016 | 0.027 | 0.035 | 0.035 | 0.035 | 0.053 | 0.062 | 0.062 | 0.062 | 0.064 | 0.061 |
| 0.00 | 0.007 | 0.012 | 0.015 | 0.016 | 0.029 | 0.035 | 0.036 | 0.037 | 0.057 | 0.061 | 0.062 | 0.063 | 0.064 | 0.063 |
| **Rata - rata** | **0.00** | **0.0075** | **0.0125** | **0.0135** | **0.016** | **0.026** | **0.035** | **0.0355** | **0.036** | **0.055** | **0.0615** | **0.062** | **0.0625** | **0.064** | **0.062** |
| **% zat warna tersisa** | 0.00 | **88.23** | **89.28** | **87.09** | **91.42** | **88.13** | **72.92** | **68.93** | **63.71** | **83.33** | **73.65** | **74.25** | **74.40** | **74.85** | **77.5** |
| 100oC | 0.00 | 0.006 | 0.010 | 0.013 | 0.014 | 0.025 | 0.031 | 0.033 | 0.033 | 0.051 | 0.057 | 0.059 | 0.060 | 0.063 | 0.059 |
| 0.00 | 0.005 | 0.010 | 0.011 | 0.014 | 0.026 | 0.031 | 0.032 | 0.034 | 0.048 | 0.059 | 0.060 | 0.061 | 0.062 | 0.059 |
|  | **Rata - rata** | **0.00** | **0.0055** | **0.010** | **0.012** | **0.014** | **0.0255** | **0.031** | **0.031** | **0.0335** | **0.0495** | **0.058** | **0.0595** | **0.0605** | **0.061** | **0.059** |
|  | **% zat warna tersisa** | 0.00 | **64.70** | **71.42** | **77.41** | **80.0** | **86.44** | **64.58** | **60.19** | **59.29** | **75.0** | **69.46** | **71.25** | **72.02** | **71.34** | **73.75** |

Table 12.Data Kadar Air Angkak Limbah Singkong

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | Hari | Ulangan 1 | | Ulangan 2 | | Rata-rata |
| % | % | % | % | % |
| **11%** | 0 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 1 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 2 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5.5 |
| 3 | 7 | 7 | 8 | 8 | 7.5 |
| 4 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| 5 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6.5 |
| 6 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 7 | 8 | 8 | 6 | 6 | 7 |
| 8 | 5 | 5 | 7 | 7 | 6 |
| 9 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6.5 |
| 10 | 9 | 9 | 8 | 8 | 8.5 |
| 11 | 8 | 8 | 6 | 6 | 7 |
| 12 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
|  | 13 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6.5 |
|  | 14 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6.5 |
| **12%** | 0 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 1 | 5 | 5 | 6 | 6 | 5.5 |
| 2 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 3 | 7 | 7 | 5 | 5 | 6 |
| 4 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6.5 |
| 5 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| 6 | 8 | 8 | 6 | 6 | 7 |
| 7 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6.5 |
| 8 | 8 | 8 | 6 | 6 | 7 |
| 9 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6.5 |
| 10 | 8 | 8 | 6 | 6 | 7 |
| 11 | 5 | 5 | 6 | 6 | 5.5 |
| 12 | 7 | 7 | 8 | 8 | 7.5 |
|  | 13 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6.5 |
|  | 14 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| **13%** | 0 | 8 | 8 | 7 | 7 | 7.5 |
| 1 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| 2 | 7 | 7 | 8 | 8 | 7.5 |
| 3 | 7 | 7 | 8 | 8 | 7.5 |
| 4 | 4 | 4 | 8 | 8 | 6 |
| 5 | 5 | 5 | 6 | 6 | 5.5 |
| 6 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| 7 | 5 | 5 | 8 | 8 | 6.5 |
| 8 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 9 | 6 | 6 | 7 | 7 | 6.5 |
| 10 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 11 | 7 | 7 | 8 | 8 | 7.5 |
| 12 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
|  | 13 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
|  | 14 | 5 | 5 | 6 | 6 | 5.5 |

Gambar 27. Kadar Air Pigmen Angkak Konsentrasi 11%

Gambar 28. Kadar Air Pigmen Angkak Konsentrasi 12%

Gambar 29.Kadar Air Pigmen Angkak Konsentrasi 13