

## PENGUKURAN ZAT WARNA *Monascus purpureus* MENGGUNAKAN LC-MS

### MEASUREMENT OF MONASCUS PURPUREUS USING LC-MS

Anna Yuliana<sup>1</sup>, Wini Arianti<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

<sup>2</sup>Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

Jalan Cilolohan No 36 Tasikmalaya

Email : [anna\\_yuliana@stikes-bth.ac.id](mailto:anna_yuliana@stikes-bth.ac.id)

#### ABSTRAK

Pembentukan zat warna *Monascus purpureus*, hasil fermentasi padat telah diteliti dengan menggunakan beras IR64 sebagai substrat. Pembentukan zat warna telah diukur dengan cara mengekstraksi sampel menggunakan metanol 80%, yang telah difermentasi selama 14 hari, dilanjutkan dengan pengujian kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen kloroform : metanol : air (90:25:4). Pengujian dilanjutkan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Serapan zat warna *Monascus purpureus* diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 364, 365, 375, 400, 480 dan 500 nm. Hasil serapan pigmen warna dari masing-masing isolat bervariasi dan berada pada rentang 0,219-0,590. Analisis dilanjutkan dengan menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrum* (LC-MS). Hasil LC-MS menunjukkan adanya perbedaan dari masing-masing isolat. Isolat IPB-B dan IPB-T menunjukkan adanya 2 senyawa teridentifikasi dengan bobot molekul 386 dan 359, isolat ITBCC menunjukkan 3 senyawa teridentifikasi dengan bobot molekul 359, 371 dan 386, sedangkan isolat INACC F01 dan INACC F147 menunjukkan 5 senyawa teridentifikasi dengan bobot molekul 294, 346, 359, 371 dan 386. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan isolat mempengaruhi produksi zat warna *Monascus purpureus*.

**Kata Kunci:** *Monascus purpureus*, zat warna, LC-MS, Spektrofotometri UV-Vis

**Diterima:** 17 Februari 2020

**Direview:** 24 Februari 2020

**Diterbitkan:** Februari 2020

#### ABSTRACT

*The formation of Monascus purpureus color-substance, as the result of solid fermentation, had been studied by using IR64 rice as a substrate. The formation of color substance had been measured by extracting the sample using 80% methanol which had undergone 14-day fermentation, followed by the thin-layer chromatography (TLC) test with the eluent of chloroform: methanol: water (90: 25: 4). The thorough test was accomplished by using UV-Vis spectrophotometry. The absorbance of Monascus purpureus color substance was measured by UV-Vis spectrophotometry at 364, 365, 375, 400, 480 and 500 nm wavelength. The results of color pigment absorbance of each isolate variedly were in the range of 0.219-0.590. The following analysis was done by using Liquid Chromatography-Mass Spectrum (LC-MS). LC-MS results showed the differences of each isolate. The IPB-B and IPB-T isolates showed that there were two compounds identified to have 359 and 386 molecular weight, ITBCC isolates showed that there were three compounds identified to have 359 371 and 386 molecular weight, while INACC F01 and INACC F147 isolates showed that there were five compounds identified to have 294, 346, 359, 371 and 386 molecular weight. The study result showed that the differences of isolate affect the production of Monascus purpureus color substance.*

**Keywords:** *Monascus purpureus*, color substances, LC-MS, UV-Vis spectrophotometry.

#### PENDAHULUAN

Di alam ini terdapat berbagai spesies kapang penghasil angkak seperti kapang *Monascus purpureus*, *Monascus*

*ruber*, *Monascus pilosus*, *Monascus anka*, dan *Monascus floridanus*. Spesies yang paling umum digunakan sebagai penghasil angkak adalah *Monascus purpureus* Went.

*Monascus purpureus* diketahui sebagai kapang penting dalam produk fermentasi seperti beras merah, *red wine*, *rice wine*, *kaoliang wine* di Asia, terutama di Cina, Filipina, Jepang, Thailand dan Indonesia (Yuliani dkk., 2014).

Angkak merupakan hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureus*. Selain beras, ada beberapa jenis umbi dan lainnya yang memiliki kandungan pati cukup tinggi, yang dapat digunakan sebagai substrat bagi pertumbuhan *Monascus purpureus* untuk menghasilkan pigmen angkak. Angkak hasil fermentasi *Monascus purpureus*, mampu menghasilkan pigmen alami yang bersifat non toksik (Asben dan Kasim, 2015).

Komponen pigmen utama yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* adalah campuran warna kuning, jingga dan merah, pigmen kuning termasuk monascin dan ankaflavin; pigmen jingga termasuk monascorubrin dan rubropunctatin; dan pigmen merah termasuk monascorubramin dan rubropunctamin (Singh dkk., 2015).

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Erlenmeyer (IWAKI), tabung reaksi (PYREX), gelas ukur (IWAKI CTE33), *chamber*, autoklaf (HIRAYAMA), *magnetic stirrer* (IKA C-MAG HS7), ose bulat, mortir dan stamper, potter, *dry sterilisator* (CORONA, ZTP80A-7), lampu spiritus, mikro pipet

(1000 $\mu$ L), pinset, kertas saring whatman, neraca analitik, spektrofotometer UV-Vis (GENESYS 10S UV-Vis), dan LC-MS (MARINER BIOSPECTROMETRY).

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain isolat *Monascus purpureus* yang didapatkan dari koleksi di LIPI Bogor (INACC F147 dan INACC F01), IPB (IPBCC) dan ITB (ITBCC), beras IR 64, medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), kloroform, metanol 80%, akuades dan pelat silika gel GF254.

### Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini dilakukan dengan melalui beberapa tahapan, di antaranya yaitu:

#### Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua peralatan gelas dan bahan yang digunakan pada penelitian ini secara aseptik disterilkan dengan menggunakan autoklaf. Beras yang dijadikan substrat dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit (DEPKES RI, 1995).

#### Pembuatan Medium Agar Miring PDA

Medium agar miring PDA dibuat dengan cara menimbang PDA sebanyak 35 gram secara seksama kemudian melarutkannya dalam 1000 mL akuades steril dan dipanaskan hingga terbentuk larutan bening. Larutan PDA yang telah bening disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dimiringkan

dengan kemiringan 30° lalu dibiarkan hingga membeku (Asben dan Kasim, 2015).

### **Pembiakan *Monascus purpureus* pada Agar Miring**

*Monascus purpureus* diinokulasikan pada medium agar miring dengan menggunakan mikro pipet. Kemudian digoreskan dengan menggunakan ose bulat, setelah itu diinkubasi pada suhu 25° C - 32° C selama 14 hari (Asben dan Kasim, 2015).

### **Pembuatan Suspensi *Monascus purpureus*.**

*Monascus purpureus* dari biakan agar miring, yang berusia 14 hari, diambil dengan menggunakan spatel, dimasukkan ke dalam potter yang berisi akuades steril kemudian dibuat suspensi hingga homogen (Kang, dkk. 2013).

### **Fermentasi Menggunakan Medium Beras IR 64 sebagai Substrat**

Proses fermentasi padat dilakukan dengan cara memasukkan 150g beras IR64 ke dalam Erlenmeyer, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah didinginkan, beras diinokulasikan dengan 3mL suspensi *Monascus purpureus*, kemudian diinkubasi pada suhu 27°C – 32°C selama 14 hari (Timotius, 2004).

### **Ekstraksi Pigmen Warna**

Substrat hasil fermentasi disimpan di atas aluminium foil, dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C dan digiling sampai menjadi bubuk halus. Substrat padat hasil fermentasi diekstraksi

dengan 5mL metanol 80% per gram substrat kering. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan alat magnetic stirrer selama 3 jam kemudian disentrifuga dengan kecepatan 2000rpm selama 30 menit (Velmurugan, 2011).

### **Analisis Pigmen Warna Hasil Fermentasi**

#### **a. Analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis**

Pengujian KLT menggunakan lempeng silika gel sebagai fase diam. Fasa gerak yang digunakan adalah kloroform:methanol:air (90:25:4), kemudian dielusasi lalu bercak yang timbul diamati secara visual dan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254nm dan 366nm. Perbandingan uji KLT ini menggunakan produk fermentasi *Monascus purpureus* yang ada di pasaran (Feng, 2012)

#### **b. Analisis dengan Spektrofotometri UV-VIS**

Serapan larutan ekstrak metanol yang berwarna, diukur pada panjang gelombang teridentifikasi dari setiap sampel dan mengacu pada literatur, yaitu 364 dan 365 nm untuk pigmen warna kuning, 375 dan 400 nm pigmen warna jingga, 480 dan 500 nm untuk pigmen warna merah (Yulia, 2009).

Uji kestabilan zat warna dilakukan dengan menggunakan variasi suhu dan pH dan kemudian dianalisis dengan menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis (Amin dan Yuliana, 2016)

#### **c. Analisis dengan LC-MS**

Analisis LC-MS dilakukan menggunakan pelarut metanol dan dilengkapi dengan pompa biner. HPLC dihubungkan dengan spektrometer massa Q-tof yang dilengkapi dengan sumber ESI. Mode pemindaian dari 100 *m/z* sampai 1200 *m/z* dilakukan pada suhu 140°C. Kolom HPLC yang digunakan untuk analisis adalah Phenomenex 5µ C18, 150 x 1 mm. Volume sampel yang diinjeksikan sebanyak 2µL. Pelarut yang digunakan adalah metanol dengan 0,3% asam format. Pelarut dialirkan pada laju alir total 0,1 mL/menit. Pelarut berjalan dengan elusi isokratik (Eichhorn dan Knepper, 2001).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pembiakan *Monascus purpureus* pada Agar Miring PDA

Pembiakan *Monascus purpureus* dilakukan dengan menggunakan agar miring Potato Dextrose Agar (PDA). Medium agar miring PDA dipilih karena memiliki kandungan nutrisi yang baik untuk proses pertumbuhan *Monascus purpureus*.

Peningkatan kandungan nutrisi yang terdapat pada medium berjalan seimbang dengan laju pertumbuhan *Monascus purpureus*, semakin baik kandungan nutrisinya maka semakin cepat laju pertumbuhannya. Perkembangan morfologi *Monascus purpureus* dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.**  
Perkembangan morfologi *Monascus purpureus* pada biakan agar miring PDA

Usia Biakan (Hari)	Perkembangan Morfologi Koloni			
	IPBCC	ITBCC	INACC F147	INACC F01
1	Muncul titik putih	Muncul titik putih	Muncul titik putih	Muncul titik putih
2	Titik putih melebar	Titik putih melebar	Titik putih melebar	Titik putih melebar
3	Miselia tipis warna jingga	Miselia tipis warna jingga	Miselia tipis warna jingga	Miselia tipis warna jingga
4	Miselia jingga menebal	Miselia jingga menebal	Miselia jingga mulai mengerut	Miselia jingga mulai mengerut
5	Miselia jingga merah	Miselia jingga merah	Penebalan miselia yang mengerut	Penebalan miselia yang mengerut
6	Miselia berwarna merah	Miselia berwarna merah	Miselia jingga berbentuk bunga	Miselia jingga berbentuk bunga
7-10	Miselia tebal merah gelap	Miselia tebal merah gelap	Miselia jingga tua berbentuk bunga	Miselia jingga tua berbentuk bunga

Pertumbuhan *Monascus purpureus* pada agar miring PDA, yang diamati selama 10 hari dengan suhu 27-32°C, ditandai dengan terbentuknya warna merah gelap mengerut.

### Pembuatan Suspensi *Monascus purpureus*

Kapang dari biakan agar miring PDA yang telah berusia 10 hari disuspensikan dengan menambahkan akuades steril, dimasukkan ke dalam potter dan dibuat suspensi sampai homogen. Tujuan dari pembuatan suspensi *Monascus purpureus* ini adalah untuk memisahkan kapang *Monascus purpureus*

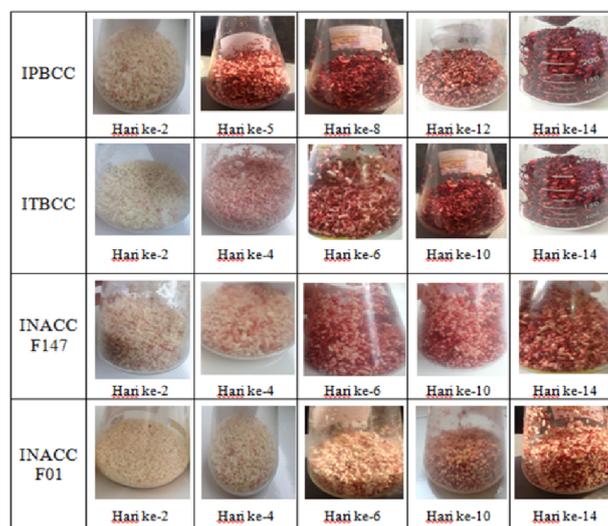
dari mediumnya dan meningkatkan kecepatan pertumbuhan. Suspensi *Monascus purpureus* ini digunakan sebagai inokulum pada fermentasi padat.

**Fermentasi *Monascus purpureus* dengan Menggunakan Beras IR64 sebagai Substrat.**

Proses fermentasi dilakukan selama 14 hari pada suhu 27-32 °C dengan menggunakan substrat beras IR64 sebagai medium fermentasi. Beras IR64 adalah medium fermentasi terpilih karena kandungan patinya yang tinggi (sekitar 80%). Pati umumnya tersusun dari dua komponen utama yaitu amilosa (20-25%) dan amilopektin (75-80%). Kandungan amilosa yang tinggi ini menyebabkan tekstur beras menjadi pera. Beras IR64 juga mengandung protein, vitamin B1,

fosfat, kalium, asam amino dan seng (Purwanto, 2011).

Pertumbuhan *Monascus purpureus* pada medium padat dapat ditandai dengan adanya pembentukan pigmen merah. Pigmen warna yang paling baik dihasilkan adalah dari isolat IPBCC dan ITBCC yaitu memiliki warna merah gelap. Sedangkan isolat dari INACC F147 dan INACC F01 memiliki warna yang lebih terang yaitu warna jingga kemerahan. Perbedaan warna disebabkan karena isolat-isolat tersebut dibiakkan pada lingkungan yang berbeda sehingga mempengaruhi proses pertumbuhannya. Pertumbuhan *Monascus purpureus* pada medium beras IR64 sebagai substrat dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Fermentasi *Monascus purpureus* pada berasa IR64 sebagai substrat

Proses fermentasi padat *Monascus purpureus* terbagi menjadi tiga fase; Fase pertama *Monascus purpureus* mengalami adaptasi terhadap medium pertumbuhannya yang baru. Fase kedua

yang merupakan fase eksponensial, maka dari itu komponen pada medium seperti sumber karbon dan nitrogen yang berasal dari metabolit primer, energi, CO<sub>2</sub> dan air, digunakan oleh *Monascus purpureus*

untuk melakukan pertumbuhan dan perkembangan sel. Fase ketiga adalah fase stasioner, maka dari itu sel menyekresikan metabolit sekunder, dimana pada fermentasi *Monascus purpureus*, metabolit sekunder yang disekresikan berupa pigmen warna dan senyawa lainnya.

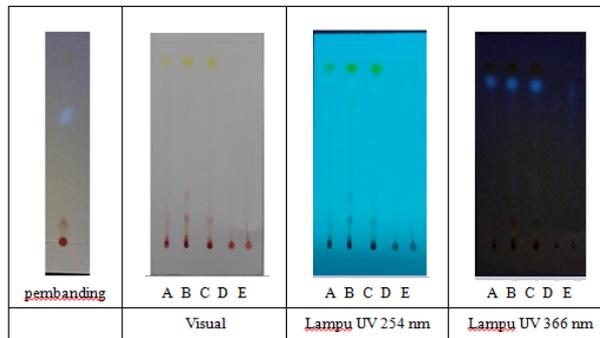
**Ekstraksi Pigmen Warna *Monascus purpureus***

Ekstraksi pigmen warna pada proses fermentasi dilakukan dengan cara melarutkan 2 gram serbuk angkak menggunakan 10 ml metanol 80%. Metanol 80% digunakan karena metanol 80% menarik dengan baik metabolit sekunder yang terdapat pada angkak (Velmurugan, 2011). Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan

sentrifugasi pada kecepatan 2000rpm. Tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk melepaskan pigmen warna sebagai metabolit sekunder dari angkak.

**Analisis Pigmen Warna *Monascus purpureus* Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Hasil pengujian KLT dapat dilihat pada Gambar 2. menunjukkan kromatogram masing-masing isolat yang menggunakan produk beras angkak sebagai pembanding. Eluen yang digunakan pada pengujian KLT ini adalah Kloroform : Metanol : Air (90:25:4), yang diamati secara visual dan di bawah sinar UV pada  $\lambda$  254 nm dan  $\lambda$  366 nm (Feng, 2012). Nilai Rf dari masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 2.



**Gambar 2.** Kromatogram dari masing-masing isolat

**Tabel 2.**  
Nilai Rf dari masing-masing isolat

No.	Asal Isolat	Nilai Rf ( <i>Retention factor</i> )		
		Spot 1	Spot 2	Spot 3
	Pembanding	0,07	0,6	0,8
1.	IPB-T	0,09	0,8	0,9
2.	IPB-B	0,07	0,8	0,8
3.	ITBCC	0,07	0,8	0,8
4.	INACC F01	-	0,7	-
5.	INACC F147	-	0,7	-

### **Analisis Pigmen Warna *Monascus purpureus* Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis**

Hasil pengukuran pembentukan pigmen warna *Monascus purpureus* menunjukkan bahwa masing-masing sampel memiliki intensitas warna pada rentang panjang gelombang 200-800 nm. Pada rentang panjang gelombang tersebut, setiap sampel mempunyai beberapa

puncak panjang gelombang, hal ini dikarenakan komponen hasil proses fermentasi sangat kompleks sehingga panjang gelombang maksimum dari setiap sampel teridentifikasi memiliki beberapa puncak. Oleh karena itu serapannya diukur dari beberapa panjang gelombang yang teridentifikasi dan mengacu pada literatur, yaitu 364, 365, 375, 400, 480 dan 500 nm.

**Tabel 3.**  
Hasil pengukuran serapan pigmen warna *Monascus purpureus*

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi (Abs)				
	IPB-B	IPB-T	ITB CC	INA CC F147	INA CC F01
364	0,493	0,475	0,514	0,346	0,558
365	0,499	0,481	0,519	0,343	0,559
375	0,540	0,519	0,543	0,321	0,495
400	0,550	0,519	0,511	0,261	0,453
480	0,440	0,363	0,369	0,219	0,284
500	0,533	0,430	0,432	0,231	0,338

Berdasarkan Tabel 3, Panjang gelombang 364 nm dan 365 nm ditandai memiliki serapan pigmen warna kuning yaitu monascin dan ankaflavin, panjang gelombang 375 nm dan 400 nm ditandai memiliki serapan pigmen warna jingga yaitu monascorubrin dan rubropunctatin, sedangkan panjang gelombang 480 nm dan 500 nm ditandai memiliki serapan pigmen warna merah yaitu monascorubramin dan rubropunctamin.

Pengukuran kestabilan zat warna pada suhu dan pH yang berbeda setelah dianalisis dengan Spektrofotometri Uv-Vis tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan

Hasil pengukuran menunjukkan pada panjang gelombang 364 nm dan 365 nm, serapan tertinggi 0,558 dan 0,559

dimiliki oleh isolat INACC F01. Pada panjang gelombang 375 nm serapan tertinggi 0,543 dimiliki oleh isolat ITBCC dan pada panjang gelombang 400 nm, 480 nm dan 500 nm, serapan tertinggi 0,550; 0,440; 0,533 dimiliki oleh isolat IPBB.

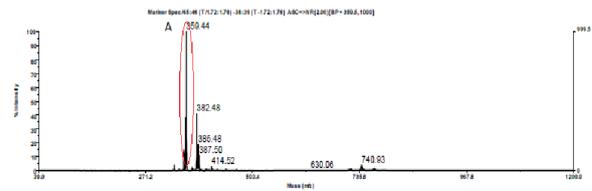
### **Analisis Pigmen Warna *Monascus purpureus* Menggunakan LC-MS**

Analisis pigmen warna ini dilakukan dengan menggunakan instrumen *Liquid Chromatography – Mass Spectrum* atau disingkat LC-MS. LC-MS ini merupakan gabungan dua alat HPLC dan MS, yang mempunyai prinsip kerja memisahkan beberapa senyawa atau campuran senyawa berdasarkan kepolarannya. Senyawa yang telah terpisah akan menghasilkan senyawa murni yang mana bobot molekulnya

diidentifikasi menggunakan *Mass Spectrum*.

Analisis LC-MS dilakukan menggunakan pelarut metanol, dilengkapi dengan pompa biner. HPLC dihubungkan dengan spektrometer massa Q-tof, yang dilengkapi dengan sumber ESI. Mode pemindaian dari 100 *m/z* sampai 1200 *m/z* dilakukan pada suhu 140°C. Kolom HPLC yang digunakan untuk analisis adalah Phenomenex 5µ C18, 150 x 1 mm. Volume sampel yang diinjeksikan sebanyak 2µL. Pelarut yang digunakan adalah metanol dengan penambahan 0,3% asam format. Pelarut dialirkan pada laju alir total 0,1 mL/menit. Pelarut berjalan dengan elusi isokratik, yaitu sampel diinjeksikan ke dalam kolom dan komposisi fase geraknya tidak berubah selama proses analisis sampai sampel terelusi dari kolom (Eichhorn dan Knepper, 2001).

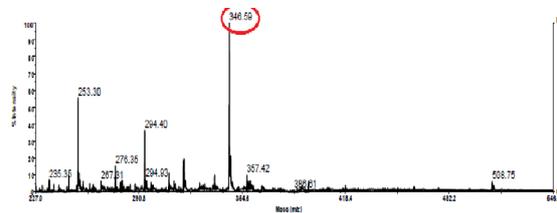
Hasil LC-MS menunjukkan adanya perbedaan dari masing-masing isolat. Isolat IPB-B dan IPB-T menunjukkan adanya 2 senyawa teridentifikasi dengan bobot molekul 386 dan 359, isolat ITBCC menunjukkan 3 senyawa teridentifikasi dengan bobot molekul 359, 371 dan 386, sedangkan isolat INACC F01 dan INACC F147 menunjukkan 5 senyawa teridentifikasi dengan bobot molekul 294, 346, 359, 371 dan 386. Kromatogram hasil pengujian LC-MS dapat dilihat pada Gambar 3.



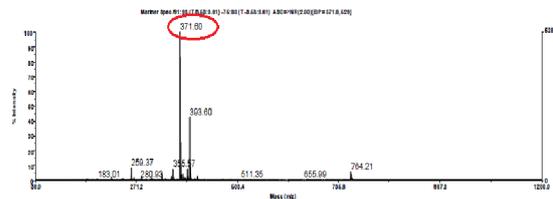
a. Ankaflavin (359)



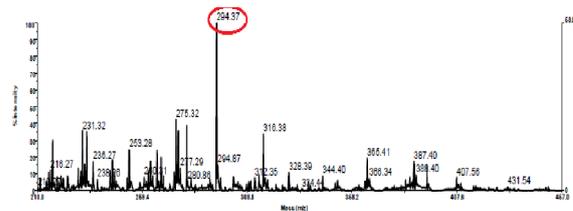
b. Monascin (386)



c. Azaphilone A (346)



d. Azaphilone B (371)



e. Azaphilone C (294)

**Gambar 3.** Kromatogram hasil LC-MS

## SIMPULAN

Pembentukan pigmen warna *M. purpureus* pada beras IR64 sebagai substrat, yang dihasilkan dari beberapa isolat IPB-B, IPB-T, ITBCC, INACC

F147 dan INACC F01, menunjukkan adanya perbedaan kandungan senyawa metabolit dari masing-masing isolat. Analisis LC-MS menunjukkan adanya perbedaan kandungan metabolit dari setiap isolat. hal ini disebabkan karena lingkungan asal isolat mempengaruhi gen yang dimiliki oleh *M. purpureus*, sehingga metabolit yang dihasilkan berbeda pula.

#### SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penelitian lebih lanjut mengenai produksi pigmen warna *M. purpureus* dengan isolat dan substrat yang berbeda disarankan untuk dilakukan, begitu juga analisis lebih lanjut sehingga didapatkan senyawa metabolit sekunder yang lebih bervariasi.

#### DAFTAR PUSTAKA

Amin S, Yuliana A. Analisis dan Uji Kestabilan Zat Warna Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Menggunakan Spektrofotometer uv-Visible dan Inframerah. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*. 2016 Nov 11;15(1):56-63.

Asben, A dan A, Kasim. 2015. Studi lama fermentasi dan tingkat kadar air dalam produksi pigmen angkak pada substrat ampas sagu-tepung beras menggunakan *M. pupureus*. *Prosiding Seminar Agroindustri dan Lokakarya Nasional FKPT-TPI*.

ISBN: 978-602-7998-92-6 (2015) : 185-191

DEPKES RI. 1995. *Farmakope Indonesia* Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; hal 1112.

Eichhorn, P. dan Knepper, T.P. 2001. Electrospray ionization mass spectrometric studies on the amphoteric surfactant cocamidopropylbetain. *Journal of Mass Spectrometry*. Vol. 36 (2001) : 677-684.

Feng, Y., Y. Shao., F. Chen. 2012. *Monascus* pigment. *Appl Microbiol Biotechnol*. Vol. 96 (2012) : 1421-1440.

Kang, B., X. Zhang., Z. Wu., H. Qi., dan Z. Wang. 2012. Effect of pH and non-ionic surfactant on profile on intracellular *Monascus* pigment. *Process Biochemistry*. Vol. 48 (2012) : 759-767.

Purwanto, A. 2011. "Produksi Angkak oleh *Monascus purpureus* dengan Menggunakan Beberapa Varietas Padi yang Berbeda Tingkat Kepulenannya" dalam *Review Jurnal Program Studi Biologi, Fakultas MIPA Universitas Katolik Widya Mandala, Madiun*. Hal 40; ISSN 0854-1981.

Singh, N., G. Goel., N. Singh., B K. Pathak., D. Kaushik. 2015. Modeling the red pigment production by *Monascus purpureus* MTCC 369 by artificial neural network using rice

- water based medium. *Food Bioscience*. Vol. 11 (2015) : 17–22.
- Timotius, K.H. 2004. Produksi pigmen angkak oleh *Monascus*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol. 15 (1) : 79-86
- Velmurugan P, dkk. 2011. *Monascus* pigment production by solid state fermentation with corn cob substrate. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol. 112 (6) : 590-594.
- Yulia, Nunung. 2009. Pembentukan Pigmen *Monascus purpureus* pada Fermentasi Padat dengan Limbah Tapioka sebagai Substrat. [Skripsi]. Tasikmalaya: Prodi Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada.
- Yuliani, L A., Y. Hamdiyati., Kusnadi. 2014. Pengaruh konsentrasi inokulum *M. purpureus* terhadap produksi pigmen pada substrat tepung biji nangka. *Formica Online*. Vol. 1 (1) : 1-10.