

**PRODUKSI PIGMEN DAN ASAM γ -AMINOBUTIRAT (GABA)
OLEH *Monascus purpureus***

***(PRODUCTION OF PIGMENTS AND γ -AMINOBUTYRIC ACID (GABA)
BY *Monascus purpureus*)***

Maria Sarah Fadillah, Endang Kusdiyantini, dan Wijanarka

Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275

email: maria.sarah.mf@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui produksi pigmen dan GABA oleh *M. purpureus* dengan konsentrasi inokulum dan waktu inkubasi yang berbeda. Fermentasi dilakukan menggunakan metode fermentasi cair dengan konsentrasi inokulum serta waktu inkubasi yang berbeda. Pengukuran pigmen intraseluler dilakukan dengan mengekstraksi pelet sel menggunakan etanol 95%. Produksi GABA ditentukan menggunakan metode ninhidrin. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur pigmen pada panjang gelombang 500, 470, dan 400 nm, sementara GABA pada panjang gelombang 401 nm. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor. Hasil penelitian menunjukkan rerata nilai pigmen merah, jingga dan kuning tertinggi pada pigmen ekstraseluler ($P < 0,05$) terjadi pada perlakuan C_3 , sementara pigmen intraseluler ($P < 0,05$) pada perlakuan C_1 , dengan perlakuan waktu inkubasi ($P < 0,05$) W_{14} . Interaksi antar kedua perlakuan ($C * W$) terjadi pada pigmen ekstraseluler merah dan jingga ($P < 0,05$). Produksi GABA tidak berbeda secara signifikan pada perlakuan konsentrasi inokulum ($P < 0,05$), tetapi berbeda secara signifikan pada perlakuan waktu inkubasi ($P < 0,05$) dan perlakuan W_{14} menunjukkan produksi tertinggi (6,1085 mg/ml). Tidak adanya interaksi antar dua perlakuan dalam produksi GABA ($P > 0,05$).

Kata kunci: *produksi pigmen, GABA, Monascus purpureus*

Abstract

This study was aimed at examining the production of pigments and GABA by *M. purpureus* in varied inoculum concentration and incubation time. The fermentation was carried out by submerged fermentation method with inoculum concentration and varied incubation time. Cell pellet was extracted using 95% ethanol for intracellular pigment measurement. GABA production was determined by ninhydrin method. Pigments were measured at 500, 470, and 400 nm wavelength by spectrophotometry, and GABA was measured at 401 nm wavelength. The experimental design was Completely Randomize Design (CRD) factorial with two factors. The higher colour value of extracellular ($P < 0,05$) red, orange and yellow pigments showed at C_3 while intracellular ($P < 0,05$) showed at C_1 with incubation time at W_{14} . There are some interactions between two factors ($C * W$) for red and orange extracellular pigments ($P < 0,05$). It was observed that inoculum concentrations have no significant difference ($P > 0,05$) for GABA production. In other hand, there is significant difference for incubation time factors ($P < 0,05$) with the highest production at W_{14} (6,1085 mg/ml). There is no interaction between two factors for GABA production ($P > 0,05$).

Keywords: *pigment production, GABA, Monascus purpureus*

PENDAHULUAN

Salah satu sumber pewarna alami adalah pigmen dari mikroorganisme yang sedang dikembangkan karena lebih mudah diproduksi dengan jumlah banyak, menghasilkan warna yang bervariasi (Chakraborty, Redkar, Munjal, Kumar & Rao, 2015), juga bersifat *biodegradable* dan ramah lingkungan, serta memiliki karakteristik yang berkaitan dengan kesehatan (Kumar, Vishwakarma, Singh, Dwivedi & Kumar, 2015).

Monascus purpureus adalah salah satu fungi yang diketahui memproduksi pigmen melalui proses fermentasi pada kultur padat ataupun cair. *Monascus* memproduksi pigmen yang dibedakan menjadi dua, yaitu pigmen intraseluler (tidak larut air) dan pigmen ekstraseluler (larut air) (Timotius, 2004). Terdapat enam jenis pigmen yang dihasilkan *Monascus* yaitu pigmen merah (rubropunctamin $\{C_{21}H_{23}NO_4\}$) dan monascorubramin $\{C_{23}H_{27}NO_4\}$), pigmen kuning (ankaflavin $\{C_{23}H_{30}O_5\}$) dan monascin $\{C_{21}H_{26}O_5\}$), dan pigmen jingga (rubropunctatin $\{C_{21}H_{22}O_5\}$ serta monascorubrin $\{C_{23}H_{26}O_5\}$) (Dhaneliya, 2011). Pigmen tersebut disintesis dalam sitosol sebagai hasil dari reaksi kompleks enzimatis dikatalisis oleh kompleks multienzim poliketida sintase (PKS) (Koli, Suryawanshi, Patil & Patil, 2017).

Produksi pigmen diketahui dipengaruhi oleh beberapa faktor pertumbuhan. Hamdiyanti, Kusnadi, dan Yuliani (2015), menyebutkan bahwa *Monascus* membutuhkan sumber karbon, nitrogen, vitamin, mineral dan faktor lingkungan termasuk jumlah inokulum yang tersedia. Hasil penelitian Dhaneliya (2011), menunjukkan bahwa ukuran inokulum yang digunakan berperan penting dalam menghasilkan pigmen maksimum.

Metabolit sekunder lainnya yang diproduksi oleh *Monascus purpureus* adalah asam gamma-amino butirat (GABA). GABA (asam amino nonprotein) berperan utama sebagai inhibitor neurotransmitter dalam sistem saraf mamalia dan diketahui dapat bermanfaat dalam kesehatan dan terapi fisiologi (Tallapragada & Dikshit, 2017). Sejumlah mikroorganisme bakteri dan banyak kapang, *yeast*, serta jamur diketahui dapat memproduksi GABA. GABA memiliki fungsi terlibat dalam germinasi spora pada *Neurospora crassa* dan *Bacillus megaterium*. Sekarang ini GABA digunakan dalam farmasi dan banyak digunakan sebagai komposisi dalam makanan, seperti *gammalone*, keju, teh gabaron, dan *shochu* (Dhakal, Bajpai & Baek, 2012).

GABA ($C_4H_9NO_2$) terbentuk dari dekarboksilasi asam glutamat oleh enzim kunci, glutamat dekarboksilase yang diproduksi oleh fungi. Asam glutamat diproduksi oleh asam protease dan asam

karboksipeptidase yang disekresikan selama pertumbuhan *Monascus purpureus*. Studi menunjukkan adanya hubungan langsung antara produksi GABA dengan periode inkubasi, suhu, konsentrasi inokulum dan sumber nitrogen (Venkateswaran, 2010). Selama fermentasi, faktor seperti suhu, pH, waktu kultivasi dan penambahan media dapat berpengaruh secara signifikan dalam memaksimalkan produksi GABA (Tallapragada & Dikshit, 2017).

Nugraha, Lunggani dan Kusdiyantini (2017) telah melakukan isolasi *Monascus* dari Angkak di Semarang, Jawa Tengah Indonesia. Hasil isolat dari Angkak Semarang tersebut telah diidentifikasi oleh Wardani (2017) yang menunjukkan isolat merupakan *Monascus purpureus*. Isolat hasil identifikasi tersebut, digunakan untuk dilakukan penelitian ini. Penelitian bertujuan untuk mengetahui produksi pigmen ekstraseluler dan intraseluler serta GABA oleh *Monascus purpureus* dengan adanya dua faktor yaitu variasi konsentrasi inokulum yang digunakan dan lamanya waktu inkubasi selama fermentasi.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi FSM UNDIP, Semarang pada bulan Juli 2018 sampai dengan September 2018. Alat yang digunakan adalah tabung erlenmeyer, tabung

reaksi dan rak tabung, mikropipet, autoklaf, vorteks, *sentrifuge*, spektrofotometer, pipet ukur, gelas ukur, botol sampel, oven, *water bath*, *rotary shaker*, dan timbangan. Bahan yang digunakan adalah isolat *Monascus purpureus* koleksi laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi FSM UNDIP), pregabalin (komersial/kapsul), bubuk *Potato Dextrose Agar* (PDA), aquades, glukosa, MSG, KCl, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, HCl 10% (v/v), larutan 2 M NaOH, etanol 95%, ninhidrin, kertas filter (Whatman No. 1), kapas, dan aluminium foil.

Isolat *M. purpureus* ditumbuhkan pada media PDA miring dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 14 hari untuk peremajaan kultur murni. Suspensi spora kapang yang didapatkan dari kultur murni *M. purpureus* ditambahkan ke dalam medium inokulum dengan komposisi (dalam g/L) yaitu glukosa 50; MSG 12,6; KCl 0,5; KH_2PO_4 2,4; K_2HPO_4 2,4; dan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01. Medium diatur pH menjadi 6. Inokulum diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 120 rpm (Kang, Zhang, Wu, Wang & Park, 2014 dengan modifikasi) selama 14 hari pada suhu ruangan dan kondisi tanpa cahaya (Wardani, 2017 dengan modifikasi).

Proses fermentasi dilakukan menggunakan medium cair dengan komposisi medium yang sama dengan medium inokulum, sebanyak 80 mL. Medium diinokulasi

dengan medium inokulum sesuai dengan perlakuan {(5%, 10%, dan 15% (v/v))} dan diinkubasi pada shaker (120 rpm) dengan suhu ruangan selama 14 hari, kondisi tanpa cahaya (Wardani, 2017). Fermentasi di-*sampling* pada hari ke 0, 3, 6, 9, 12, dan 14 untuk pengukuran biomassa sel, produksi pigmen dan GABA.

Biomassa sel diukur dengan memisahkan miselia dari media fermentasi menggunakan kertas filter (Whatman No. 1). Miselium dikeringkan pada oven suhu 80°C selama 18 jam (Wardani, 2017 dengan modifikasi).

Sampel disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit untuk pengukuran pigmen. Pigmen terdapat dalam dua fraksi yaitu filtrat dan pelet. Pengukuran pigmen dalam pelet dilakukan dengan ekstraksi menggunakan etanol 95% (v/v). 10 mL etanol ditambahkan 1 gram sel pelet hasil sentrifugasi dalam tabung uji 20 mL, kemudian digojog dan disimpan pada suhu ruangan semalaman. Campuran tersebut dipisahkan dengan kertas filter (Whatman No. 1) dan filtrat yang diperoleh akan digunakan untuk pengukuran pigmen (Musaalbakri, Ariff, Rosfarizan, & Ismail, 2005). Pengukuran absorbansi dilakukan pada tiga panjang gelombang yaitu 500 nm (pigmen merah), 470 nm (pigmen jingga) dan 400 nm (pigmen kuning) menggunakan spektrofotometer (Hamdiyati *et al.*, 2015).

Nilai absorbansi dari hasil pengukuran pigmen ekstraseluler *M. purpureus* diubah menjadi nilai pigmen (CVU) dengan menggunakan rumus berikut (Dikshit & Tallapragada, 2011).

$$\text{Nilai pigmen} = \frac{O.D. \times \text{pengenceran} \times \text{volume ekstrak}}{\text{jumlah sampel (ml)}}$$

Nilai absorbansi dari hasil pengukuran pigmen intraseluler *M. purpureus* diubah menjadi nilai pigmen (CVU) dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Dikshit & Tallapragada, 2011).

$$\text{Nilai pigmen} = \frac{O.D. \times \text{pengenceran} \times \text{volume ekstrak}}{\text{jumlah sampel (gr)}}$$

Panjang gelombang maksimum (λ_{\max}) untuk produksi GABA ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan pregabalin kapsul dalam *buffer* fosfat pH 7,4 dan penambahan larutan ninhidrin pada rentang panjang gelombang 370-600 nm (Bali & Gaur, 2011).

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan membuat variasi konsentrasi aliquot diambil dari larutan stok pregabalin (2 mg/mL) dan diencerkan dengan *buffer* fosfat pH 7,4 untuk membuat kisaran konsentrasi dari 50-1000 $\mu\text{g/mL}$. Sebanyak 5,0 mL aliquot tersebut dimasukkan ke dalam tabung, kemudian ditambahkan 1,0 mL larutan ninhidrin (0,2% w/v) dan dipanaskan dalam *water bath* pada suhu

70-75°C selama 20 menit. Didinginkan, kemudian nilai absorbansi dibuat triplikat pada λ_{\max} . Grafik kalibrasi dihasilkan dengan menempatkan nilai absorbansi pada λ_{\max} dan nilai konsentrasi (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/mL), sehingga didapatkan persamaan *Beer Lambert's Laws* (Bali & Gaur, 2011).

Sebanyak 5,0 mL aliquot filtrat hasil ekstraksi miselium dengan etanol ditambahkan 1,0 mL larutan ninhidrin dan dipanaskan pada *water bath* pada suhu 70-75°C selama 20 menit. Nilai absorbansi dengan triplikat pada λ_{\max} (Bali & Gaur, 2011). Nilai yang didapat dimasukkan ke dalam persamaan *Beer Lambert's Laws* yang didapat dari pembuatan kurva standar. Hasil akhir berupa konsentrasi GABA (mg/ml) pada sampel fermentasi.

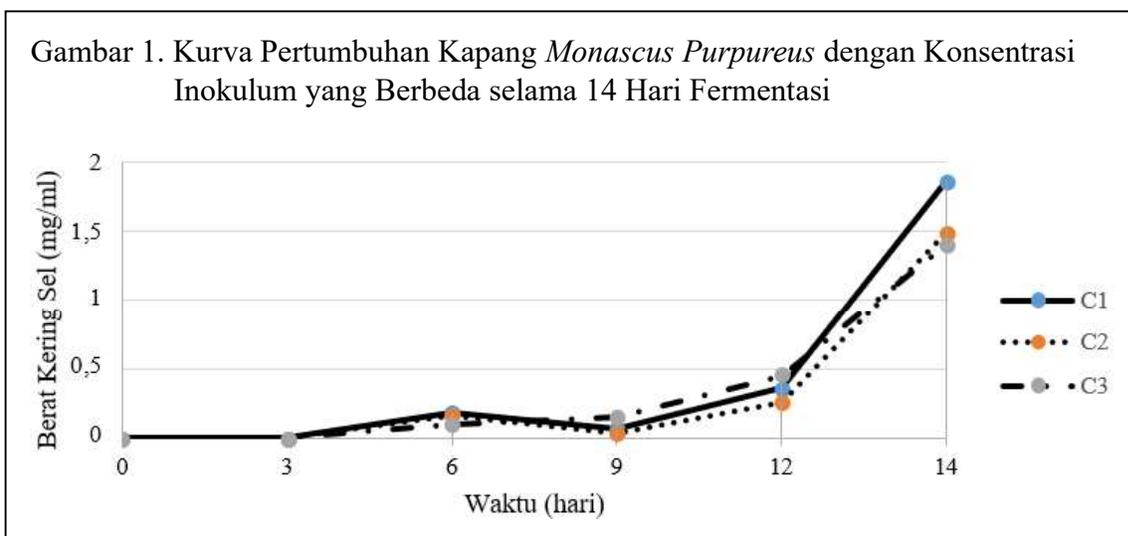
Penelitian menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor yaitu konsentrasi inokulum

{C₁ (5%), C₂ (10%), dan C₃ (15%)} dan waktu inkubasi {0 hari (W₀), 3 hari (W₃), 6 hari (W₆), 9 hari (W₉), 12 hari (W₁₂), dan 14 hari (W₁₄)}. Analisis menggunakan ANOVA dengan uji lanjut menggunakan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 menunjukkan dalam fermentasi terjadi 2 fase pertumbuhan yaitu fase lag yang terjadi pada hari ke 0 hingga hari ke-9, pertumbuhan *Monascus purpureus* mencapai fase logaritmik pada hari ke-9 dan masih berada dalam fase tersebut hingga hari ke-14 pada perlakuan C₁ dan C₂, sedangkan perlakuan C₃ sudah memasuki fase logaritmik pada hari ke-3 fermentasi.

Fase pertumbuhan adalah parameter kunci dari produksi metabolit sekunder. *Monascus purpureus* memulai produksi pigmen dengan merubah metabolisme karbon sentral dan degradasi asam lemak

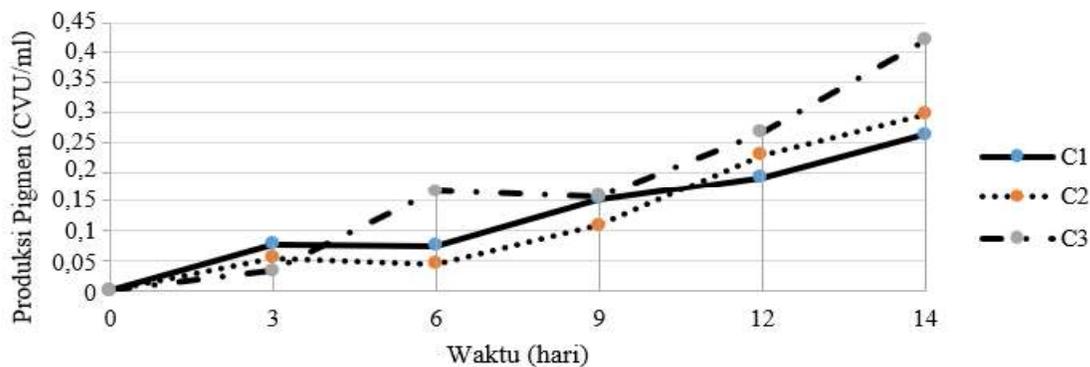


yang berpengaruh terhadap sintesis pigmen, melalui pengendalian jalur biosintesis asetil CoA (Srianta, Zubaidah, Estiasih, Yamada, & Harijono, 2016).

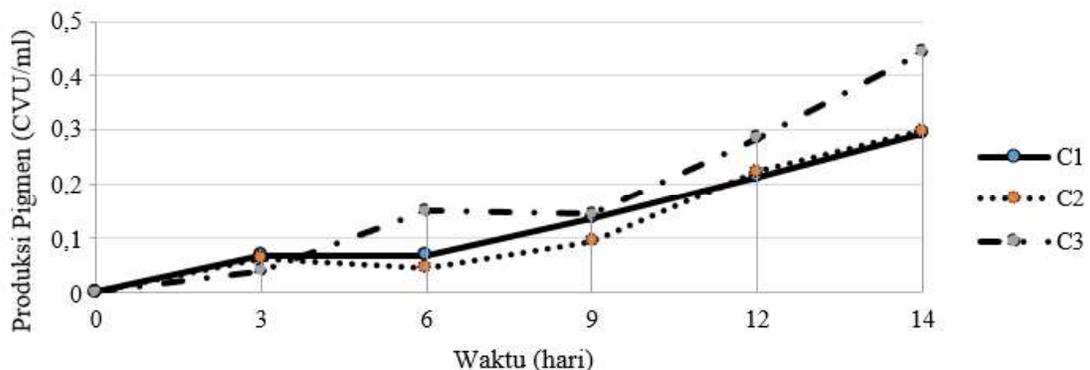
Gambar 2, 3, dan 4 menunjukkan produksi ketiga pigmen maksimum terjadi pada perlakuan C_3W_{14} . Produksi rata-rata nilai pigmen ekstraseluler tertinggi yaitu pigmen jingga (0,4424 CVU/ml), diikuti dengan pigmen merah (0,419 CVU/ml),

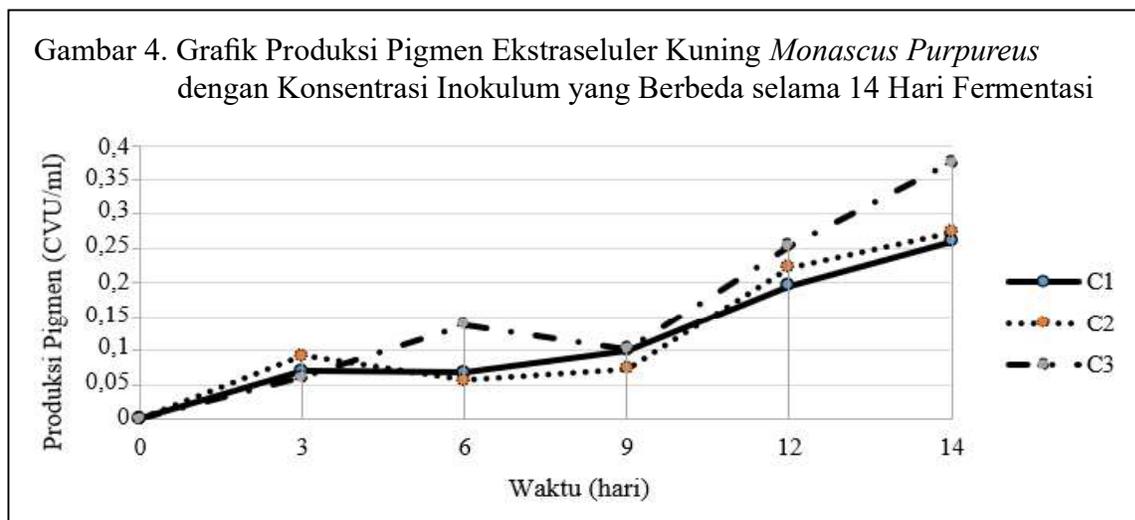
dan pigmen kuning (0,376 CVU/ml). Nilai pigmen untuk ketiga jenis pigmen terendah terjadi pada perlakuan waktu inkubasi 0 hari fermentasi (W_0), hal ini menunjukkan bahwa *Monascus* pada tahap awal fermentasi belum memproduksi pigmen. Kondisi memperlihatkan bahwa pigmen jingga diproduksi lebih banyak, diikuti dengan pigmen merah dan terendah pada pigmen kuning. Hasil ini ditunjukkan juga terjadi

Gambar 2. Grafik Produksi Pigmen Ekstraseluler Merah *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi



Gambar 3. Grafik Produksi Pigmen Ekstraseluler Jingga *Monascus Purpureus* dengan Konsentrasi Inokulum yang Berbeda selama 14 Hari Fermentasi





pada Kang *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa pigmen jingga dan merah menjadi komponen ekstraseluler utama pada media fermentasi *Monascus anka* pada pH 6 dengan komposisi medium fermentasi menggunakan sumber nitrogen dari MSG.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan pada ketiga jenis pigmen memproduksi rata-rata nilai pigmen yang berbeda secara signifikan terhadap perlakuan konsentrasi inokulum ($p < 0,05$) dengan rata-rata tertinggi dicapai pada perlakuan C_3 dan perlakuan waktu inkubasi ($p < 0,05$) dengan rata-rata tertinggi dicapai pada perlakuan W_{14} . Produksi pigmen merah dan jingga menunjukkan adanya interaksi antar kedua perlakuan ($p < 0,05$) dengan rata-rata nilai pigmen tertinggi dicapai pada perlakuan C_3W_{14} . Tingginya produksi pada perlakuan W_{14} dikarenakan waktu inkubasi 14 hari menunjukkan fase logaritmik akhir dari fermentasi sehingga kadar pigmen yang di-

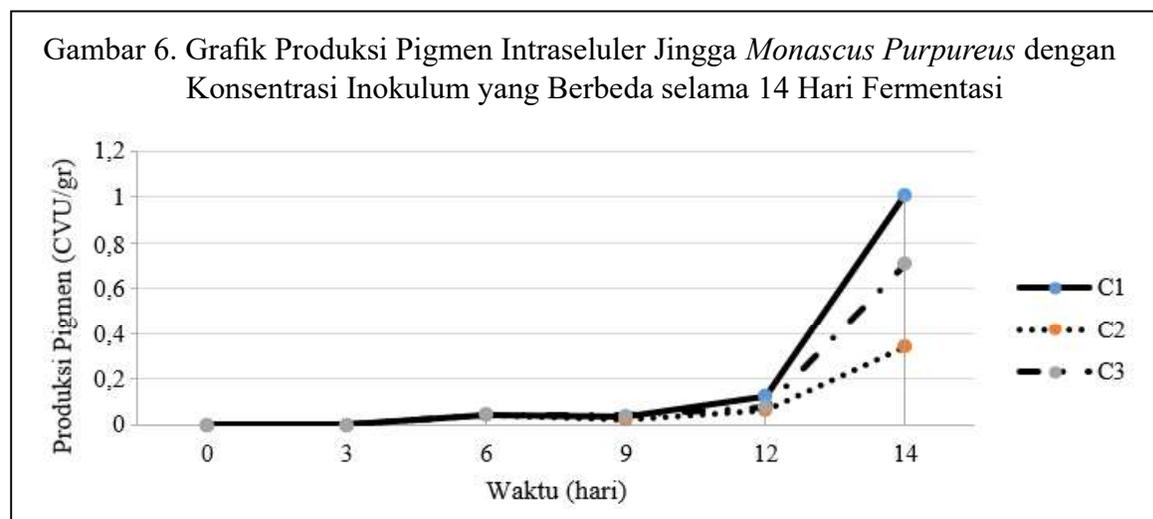
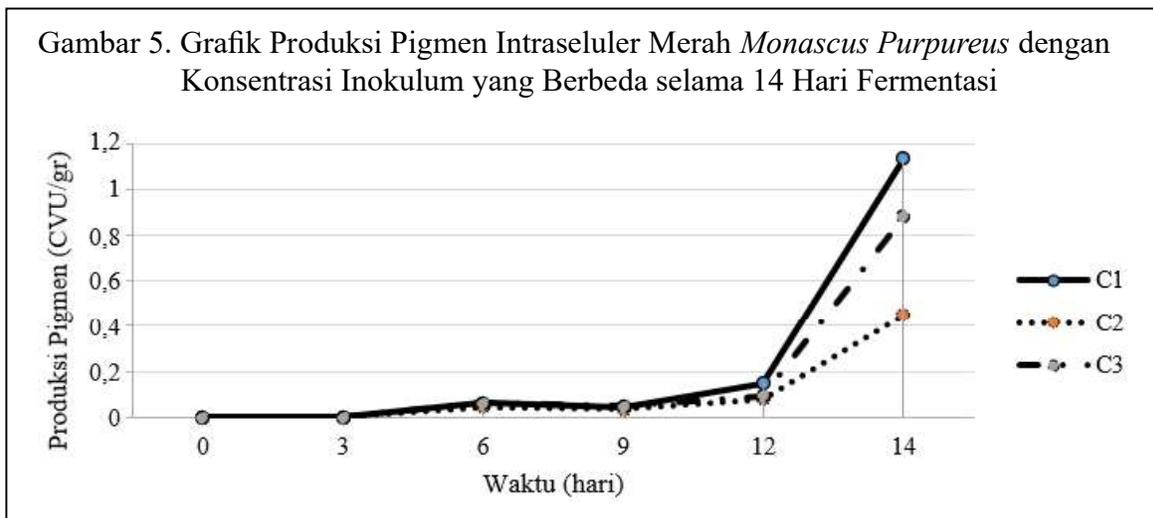
hasilkan berada dalam jumlah yang maksimal oleh *Monascus purpureus*, dibandingkan dengan perlakuan waktu inkubasi lainnya.

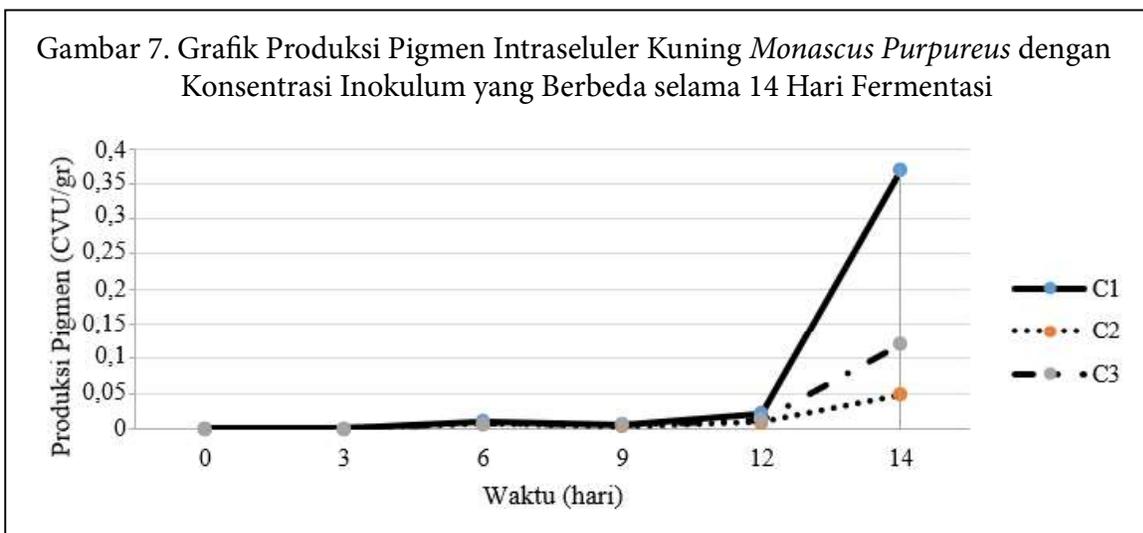
Perlakuan konsentrasi inokulum menunjukkan produksi tertinggi terjadi pada perlakuan C_3 . Biomassa yang dihasilkan terendah dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi inokulum lainnya. Silbir dan Goksungur (2019) mengatakan bahwa konsentrasi inokulum spora mempengaruhi pertumbuhan. Konsentrasi inokulum yang rendah akan mengurangi jumlah biomassa sehingga rendahnya konsentrasi pigmen yang dihasilkan. Konsentrasi inokulum yang tinggi menyebabkan konsentrasi biomassa yang tinggi sehingga cepatnya konsumsi nutrisi yang dibutuhkan untuk produksi pigmen dalam medium fermentasi. Akan tetapi, penelitian Méndez, Pérez, Montañéz, Maertínez, dan Aguilar (2011) menunjukkan sebaliknya, yaitu tidak ada hubungan langsung antara konsentrasi biomassa dan

produksi pigmen. Produksi pigmen lebih berhubungan dengan faktor lingkungan yang bersamaan mengaktifkan mekanisme berkaitan dengan genetik dan kontrol metabolik atau mekanisme perlindungan.

Pengukuran produksi pigmen intraseluler dimulai dari perlakuan waktu inkubasi hari ke-6. Hasil pengukuran pigmen tersebut dinyatakan dalam satuan unit nilai pigmen dalam gram (CVU/gr). Gambar 5, 6, dan

7 menunjukkan produksi ketiga pigmen maksimum terjadi pada perlakuan C_1W_{14} dengan rata-rata nilai pigmen intraseluler tertinggi pada pigmen kuning (3,6883 CVU/gr), diikuti dengan pigmen merah (1,1326 CVU/gr) dan pigmen jingga (1,0107 CVU/gr). Rata-rata nilai pigmen terendah untuk ketiga jenis pigmen terjadi pada perlakuan C_2W_9 , yaitu pigmen merah sebesar 0,0337 CVU/gr, pigmen kuning sebesar 0,0363





CVU/gr dan pigmen jingga sebesar 0,0257 CVU/gr.

Hasil pengukuran memperlihatkan pigmen intraseluler yang lebih banyak diproduksi adalah pigmen kuning, diikuti dengan pigmen merah dan jingga. Hasil ini juga ditunjukkan oleh Kang *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa pada pH 6 dengan sumber nitrogen yaitu MSG, pigmen intraseluler menunjukkan pigmen kuning yang diproduksi lebih tinggi dibandingkan kedua jenis pigmen lainnya.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan pada ketiga jenis pigmen memproduksi rata-rata nilai pigmen yang berbeda secara signifikan terhadap perlakuan konsentrasi inokulum ($p < 0,05$) dengan rata-rata tertinggi dicapai pada perlakuan C_1 dan perlakuan waktu inkubasi ($p < 0,05$) dengan rata-rata tertinggi dicapai pada perlakuan W_{14} .

Nilai pigmen intraseluler tertinggi selama fermentasi dicapai pada konsentrasi 5% selama 14 hari fermentasi. Hasil analisis menunjukkan nilai pigmen yang dihasilkan tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 15% ($p > 0,05$) untuk pigmen merah dan jingga. Berbeda halnya dengan pigmen ekstraseluler. Nilai pigmen tertinggi dicapai pada perlakuan C_3 . C_1 memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan C_2 dan C_3 untuk memproduksi pigmen intraseluler dalam penelitian ini. Produksi tertinggi dicapai pada perlakuan C_1 ditunjukkan sebanding dengan biomassa yang dihasilkan, dimana biomassa C_1 tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Selain itu, kondisi ini dimungkinkan karena terjadinya perubahan pH medium fermentasi yang berbeda antara perlakuan C_1 dengan konsentrasi inokulum C_2 dan C_3 selama fermentasi.

Kondisi pH mempengaruhi fisiologi fungi, perkembangan konidia dan sintesis pigmen (Mukherjee & Singh, 2011). pH sangat berpengaruh terhadap komposisi pigmen dan pembagian pigmen antara kultur ekstraseluler dan biomassa intraseluler. Fraksi pigmen ekstraseluler akan meningkat dengan meningkatnya pH (Kang *et al.*, 2014). Bühler, Dutra, Vendruscolo, Moritz, dan Ninow (2013) menuliskan pada jurnalnya bahwa beberapa pigmen yang diproduksi oleh *Monascus* sp. adalah intraseluler dan tidak larut dalam air, tetapi kondisi pertumbuhan seperti sumber nitrogen, pH, dan aerasi dapat menyebabkan pembentukan pigmen ekstraseluler dan larut dalam air. Perubahan pH medium dalam kultur *Monascus* sp. akan mengubah proporsi antara pembentukan pigmen lainnya dan produksi ekstraseluler.

Salah satu metode untuk pengukuran GABA adalah metode ninhidrin. Metode

kolorimetri, dimana hasil reaksi dapat diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang tertentu. Metode ini bertujuan untuk mengukur konsentrasi GABA pada media fermentasi yaitu dengan mengukur warna kromofor *Rheumann's purple* yang terjadi akibat reaksi senyawa ninhidrin dengan gugus amino GABA pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimal yang sebelumnya telah dilakukan pengukuran yaitu 401 nm. Panjang gelombang tersebut berada dekat dengan hasil panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh penelitian sebelumnya yaitu 402,6 nm (Bali & Gaur, 2011).

Pengukuran GABA pada fermentasi dilakukan dimulai dari waktu inkubasi 6 hari. Hasil pengamatan disajikan pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan produksi GABA maksimum terjadi pada perlakuan C₃W₁₄ dengan rata-rata GABA sebesar 6,5275 mg/

Tabel 1
Rerata Produksi Senyawa GABA (mg/ml) terhadap Perlakuan Konsentrasi Inokulum dan Waktu Inkubasi yang Berbeda

Konsentrasi Inokulum	Waktu Inkubasi				Rerata
	W ₆	W ₉	W ₁₂	W ₁₄	
C ₁	4,5594	3,8475	4,9722	5,6988	4,7695
C ₂	4,1576	3,2650	4,5256	6,0993	4,5119
C ₃	4,6492	4,2310	4,1490	6,5275	4,8892
Rerata	4,4554 ^b	3,7812 ^c	4,5489 ^b	6,1085 ^a	

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji Duncan dengan taraf kepercayaan 95%.

ml dan terendah dihasilkan oleh perlakuan C_2W_9 , yaitu rata-rata sebesar 3,265 mg/ml.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa GABA yang dihasilkan tidak berbeda secara signifikan pada perlakuan konsentrasi inokulum ($p>0,05$), sementara perlakuan waktu inkubasi memberikan hasil yang berbeda secara signifikan terhadap produksi GABA ($p<0,05$). Tabel 1 menunjukkan perlakuan waktu inkubasi 14 hari (W_{14}) menghasilkan rata-rata GABA tertinggi (6,1085 mg/ml) dan terendah terjadi pada perlakuan waktu inkubasi 9 hari (W_9) dengan rata-rata GABA sebesar 3,7812 mg/ml.

Faktor waktu fermentasi merupakan faktor yang berperan penting dalam produksi GABA selain faktor suhu dan pH (Dhakal *et al.*, 2012). Hal ini dikarenakan konsentrasi GABA akan mencapai maksimum pada durasi tertentu dan mengalami penurunan setelahnya akibat dari perubahan GABA menjadi asam suksinat semialdehid dan terakhir menjadi asam suksinat yang bersifat ireversibel (Chua, Koh & Liu, 2019).

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan pigmen ekstraseluler dan intraseluler *Monascus purpureus* dihasilkan tertinggi pada perlakuan C_3 dan C_1 berturut-turut, baik untuk pigmen merah, jingga, maupun kuning, pada perlakuan waktu inkubasi W_{14} . Konsentrasi GABA dengan hasil yang tertinggi oleh

Monascus purpureus dalam penelitian ini terjadi pada perlakuan C_3 dan perlakuan W_{14} .

DAFTAR PUSTAKA

- Bali, A., & Gaur, P. (2011). A novel method for spectrophotometric determination of pregabalin in pure form and in capsules. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 59-65.
- Bühler, R. M. M., Dutra, A. C., Vendruscolo, F., Moritz, D. E., & Ninow, J. L. (2013). *Monascus* pigment production in bioreactor using a co-product of biodiesel as substrate. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 33(1), 9-13.
- Chakraborty, I., Redkar, P., Munjal, M., Kumar, S. R. S., & Rao, K. V. B. (2015). Isolation and Characterization of Pigment Producing Marine Actinobacteria from Mangrove Soil and Applications of Bio-Pigments. *Der Pharmacia Lettre*, 7(4), 93-100.
- Chua, J. Y., Koh, M. K. P., & Liu, S. Q. (2019). Gamma-aminobutyric acid: a bioactive compound in foods. Dalam H. Feng, B. Nemzer, & J. W. DeVries, *Sprouted grains: Nutritional value, production, and applications* (pp. 25-54). USA: AACC International.
- Dhakal, R., Bajpai, V. K., & Baek, K. H. (2012). Production GABA (γ -AminoButyric Acid) by microorganisms: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1230-1241.
- Dhaneliya, N. S. (2011). *Biosynthesis of microbial pigments using co-culture of monascus purpureus and monascus ruber* (Thesis tidak diterbitkan). Jawaharlal Nehru Krishi Visha Vidyalaya, Jabalpur.
- Dikshit, R., & Tallapragada, P. (2011). *Monascus purpureus*: A Potential Source for Natural Pigment Production. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 1(4), 164-174.

- Hamdiyati, Y., Kusnadi, & Yuliani, L. A. (2015). Effect of monascus purpureus inoculum concentration on pigment production in jackfruit seed flour substrate. *AIP Conference Proceedings*, 1708(1), 1-5.
- Kang, B., Zhang, X., Wu, Z., Wang Z., & Park, S. (2014). Production of citrinin-free monascus pigments by submerged culture at low pH. *Enzyme and Microbial Technology*, 55, 50-57.
- Koli, S. H., Suryawanshi, R. K., Patil, C. D., & Patil, S. V. (2017). Chapter 9: Diversity and applications of versatile pigments produced by monascus sp. Dalam O. V. Singh, *Biopigmentation and biotechnological implementations* (pp. 193-209). USA: John Wiley & Sons.
- Kumar, A., Vishwakarma, H. S., Singh, J., Dwivedi, S., & Kumar, M. (2015). Microbial pigments: Production and their applications in various industries. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical, and Biological Sciences*, 5(1), 203-212.
- Méndez, A., Pérez, C., Montañéz, J.C., Maertínez, G., & Aguilar, C.N. (2011). Red Pigment Production by *Penicillium purpurogenum* GH2 is Influenced by pH and Temperature. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, 12(12), 961-968.
- Mukherjee, G., & Singh, S. K. (2011). Purification and characterization of a new red pigment from monascus purpureus in submerged fermentation. *Process Biochemistry*, 46, 188-192.
- Musaalbakri, A. M., Ariff, A., Rosfarizan, M., & Ismail, A. K. (2005). Fermentation conditions affecting growth and red pigment production of monascus purpureus FTC 5391. *Journal of Tropical Agricultural and Food Science*, 33(2), 261-276.
- Nugraha, S., Lunggani, A. T., & Kusdiyantini, E. (2017). Pigment production of monascus sp. isolated from angkak in Semarang Region, Central Java, Indonesia. *Indonesian Food and Nutrition Progress*, 14(1), 52-58.
- Silbir, S., & Goksungur, Y. (2019). Natural Red Pigment Production by *Monascus purpureus* in Submerged Fermentation Systems Using a Food Industry Waste: Brewer's Spent Grain. *Foods*, 8(161), 1-14.
- Srianta, I., Zubaidah, E., Estiasih, T., Yamada, M., & Harijono. (2016). Comparison of monascus purpureus growth, pigment production and composition on different cereal substrates with solid state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 181-186.
- Tallapragada, P., & Dikshit, R. (2017). Microbial production of secondary metabolites as food ingredients. Dalam A. M. Holban & A. M. Grumezescu, *Microbial production of food ingredients and additives* (pp. 317-342). Cambridge: Elsevier.
- Timotius, K. H. (2004). Produksi pigmen angkak oleh monascus. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 15(1), 79-86.
- Venkateswaran, V. (2010). *Characterization of bioactive molecules from monascus purpureus fermented finger millet (Eleusine coracana)* (Thesis tidak diterbitkan). University of Mysore, Mysore.
- Wardani, M. T. (2017). *Identifikasi molekuler isolat monascus sp. hasil isolasi angkak berdasarkan gen Internal Transcribed Spacer (ITS) dan pengukuran kandungan pigmen* (Skripsi tidak diterbitkan). Universitas Diponegoro, Semarang.