

Isolasi, Identifikasi Pigmen, dan Analisis Aktivitas Antioksidan Pigmen *Monascus* (Ascomycota)

DHANANG PUSPITA*, ISNAINI K. PUTRI, FITRI H. AL-JANATI,
MILKA M. MULYANTO

Teknologi Pangan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga-Jawa Tengah

Diterima: 13 April 2020 - Disetujui: 1 September 2020
© 2020 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Monascus is a type of organism that can produce natural pigments. *Monascus* pigments have been widely used in the food and pharmaceutical industries. Besides having natural pigments, *Monascus* also contains antioxidants as preventing of the free radicals. The purpose of this study is to isolate, identify the type of pigment, and analyze antioxidant activity. This research method is divided into 3 stages; *Monascus* isolation, pigment identification with UV-vis spectrophotometer and TLC, and calculation of antioxidant activity with DPPH. The isolated *Monascus* had 3 pigment fractions and contained a total carotenoid of 18.55 µg/g, total orange pigment of 278.25 units/mL, and red pigment of 235.75 units/mL. Antioxidant activity of 4.22 ppm and included in the high category.

Key words: antioxidant; *monascus*; pigment.

PENDAHULUAN

Karotenoid adalah pigmen berwarna kuning, merah, serta orange yang secara alami terdapat pada tumbuhan dan hewan. Lebih dari 100 macam karotenoid terdapat di alam, tetapi hanya beberapa macam yang telah dapat diisolasi atau disintesa untuk bahan pewarna makanan. Karotenoid merupakan senyawa yang tidak larut dalam air dan sedikit larut dalam minyak atau lemak (Rao & Rao, 2007). Ketersediaan β-karoten sebagai sumber vitamin A, terutama dari tanaman sering bersifat musiman. Selain itu, vitamin A yang berasal tanaman maupun hewan juga mudah mengalami kerusakan akibat pengolahan (Booth *et al.*, 1992). Alternatif lain dalam mencari sumber vitamin A adalah dengan menggunakan mikroba dan jamur yang mempunyai beberapa keuntung-

an antara lain tidak tergantung iklim, dan dapat memanfaatkan limbah hasil pertanian sebagai substrat (Nuraida *et al.*, 1996).

Beberapa jenis jamur yang dapat menghasilkan pigmen, seperti jamur angkak (*Monascus purpureus*). *Monascus purpureus* dari keluarga monastik dan dari kelas Ascomycota yang memiliki ciri khas mampu menghasilkan metabolit sekunder berwarna kuning, oranye atau merah (Juzlova *et al.*, 1996). *Monascus* dapat dengan mudah tumbuh di beberapa ekosistem sehingga mudah untuk didapatkan. Pigmen *Monascus* atau angkak telah menjadi tradisi pangan di Asia timur (Dikshit & Tallapragada, 2011; Mukherjee & Singh, 2011). Pigmen *Monascus* diaplikasikan pada beberapa kelompok pangan, yaitu untuk mewarnai produk pangan hewani, minuman, pangan laut (*sea food*) dan *nata de coco*, dan pengobatan tradisional Tiongkok (Panda *et al.*, 2010). Di Cina, Taiwan, dan Filipina angkak telah digunakan sebagai pewarna makanan maupun minuman seperti *chinese cheese* dan *bagoong* makanan khas Filipina dan anggur merah (Susanti, 1998). Dosis yang digunakan untuk

* *Alamat korespondensi:*

Teknologi Pangan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UKSW. Jl. Kartini No.11A Salatiga-Jawa Tengah 50711. E-mail: dhanang.puspita@uksw.edu.

pewarna pangan hewani berkisar 2000–4000 ppm ekstrak *Monascus*. Untuk minuman ringan, konsentrasi yang digunakan dapat lebih rendah, yaitu 0,002–0,005% (2–5 ppm). Minuman anggur merah memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi, yaitu 0,2–1,0 % (200–1000 ppm). Untuk *nata de coco*, pigmen *Monascus* ditambahkan setelah terbentuk nata, sehingga nata dapat terwarnai (Sheu *et al.*, 2000).

Selain memproduksi pigmen, *Monascus* juga menghasilkan enzim α dan β -amilase, glukamilase, protease, dan lipase. *Monascus* dalam bentuk tepung dapat dijadikan campuran makanan dan minuman suplemen sebagai penurun kadar kolesterol darah. Kegunaan *monascus* juga dapat mengobati berbagai penyakit termasuk infeksi, gangguan pencernaan termasuk diare, dan meningkatkan sirkulasi darah. Berdasarkan resep obat-obatan Tiongkok, *monascus* mampu menyembuhkan penyakit asma dan kelainan urinasi (Steinkraus, 1983). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat murni *Monascus*, kemudian mengidentifikasi pigmen, dan menghitung aktivitas antioksidannya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKIK UKSW. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Potatto Dextrose Agar* (Merck), aquades, nasi yang ditumbuhi angkak, metanol (Merck), heksana (Merck), dietil eter (Merck), dan kloroform (Merck). Alat yang digunakan pada penelitian ini ; Spektrofotometer (Genesys 10S UV-VIS), *Centrifuge* (Hettich Zentrifuge), Autoclaf (All-American), tabung *centrifuge* (Corning), timbangan analitik (Ohaus & Acis Bc-000), Vortex (Vielt scientifica), Micropipet (DLab), kuvet (Spectra cuvette), magnetic stirrer (IKA.C-MAG,HS4), Mikroskop (Nikon). Adapun tahapan penelitian meliputi; isolasi *Monascus*, uji pertumbuhan, produksi pigmen, ekstraksi pigmen, dan analisis pigmen dengan Kromatografi

lapis tipis (KLT) dan spektrofotometri, dan aktivitas antioksidan dengan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

Isolasi *Monascus*

Sebanyak 11 g *potatoe dextrose agar* (PDA) dilarutkan dengan 250 mL aquadest steril kemudian dipanaskan hingga larut sempurna. Setelah itu disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm, kemudian media dituang ke dalam cawan petri steril hingga memadat. Angkak yang tumbuh di nasi yang ditandai warna kuning/jingga dicuplik dengan jarum ose, kemudian digoreskan pada permukaan PDA dan selanjutnya diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 27 °C selama 2–3 hari hingga muncul miselia dan spora berwarna kuning/jingga. Isolat kemudian dipindahkan dalam agar miring berisi PDA sebagai kultur murni.

Uji Pertumbuhan

Dicuplik spora isolat murni dari agar miring dengan menggunakan jarum ose lalu diinokulasikan pada titik tengah cawan petri yang berisi media PDA steril yang telah memadat. Setelah itu diinkubasi selama 2 – 3 hari dalam inkubator suhu 27°C. Pengamatan dilakukan setiap 24 jam sekali dan dilakukan penghitungan panjang jari-jari pertumbuhan *Monascus* dihitung dari titik tengah cawa petri.

Produksi Pigmen *Monascus*

Ditimbang sebanyak 100 g beras, lalu dicuci bersih dikukus sekitar 20 menit. Setelah didinginkan dalam nampan lalu dicampurkan dengan angkak yang sudah dibiakan di medium agar miring dan diletakan di bawah matahari langsung selama 2 – 3 hari sampai mengering dan ditumbuhi miselium *Monascus*. Setelah beras ditumbuhi *Monascus* secara merata lalu dilakukan pengayakan dengan *mesh* ukuran 60 hingga didapat serbuk angkak.

Ekstraksi Pigmen

Serbuk angkak sebanyak 1 g dilarutkan dalam pelarut heksana, methanol, eter, dan kloroform

masing-masing 9 mL. Campuran dihomogenkan dengan menggunakan vortex sekitar 3 menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 40.000 rpm selama 15 menit. Setelah itu dipisahkan supernatan dan pelet. Supernatan yang dihasilkan adalah ekstrak pigmen *Monascus*.

Fraksi Pigmen dengan Spektrofotometer dan KLT

Sebanyak 4 mL supernatan dipindai dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 350-550 nm. Hasil pemindaian kemudian diolah dengan menggunakan perangkat lunak Origin versi 20.

Fraksi Pigmen dengan Spektrofotometer dan KLT

Sebanyak 1 mL supernatan dipekatkan dengan cara diuapkan dengan udara panas. Supernatan yang sudah pekat kemudian ditotolkan pada plat KLT dengan pipa kapiler. KLT kemudian dicelupkan dalam larutan yang berisi eluen (1:1:1:1); heksana, methanol, eter, dan kloroform, lalu dihitung RF-nya berdasar fraksi pigmen yang terbentuk.

Analisis Total Karotenoid

Analisis karotenoid (Rodriguez-amaya, 2001) dilakukan dengan Uji petik dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel kemudian dilarutkan dalam 4 ml aseton di dalam tabung reaksi lalu divortex selama 1 menit. Setelah divortex kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 5 menit. Supernatan kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm dan sebagai blanko/kontrol digunakan minyak kelapa tanpa penambahan minyak buah merah. Penghitungan konsentrasi karotenoid disarakan rumus:

$$\text{Total Karotenoid } (\mu\text{g}) = \frac{A_{450} \times 4 \text{ ml} \times 10^6}{2.592 \times 100}$$

Analisis Determinasi Pigmen

Ekstrak pigmen diukur dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang 440 dan 500 nm untuk mendeterminasi pigmen kuning dan merah

dan akan dihasilkan kandungan pigmen unit/mL. Penghitungan didasarkan persamaan (Hailing-Tan *et al.*, 2018; Kaur *et al.*, 2008):

(jingga) Satuan nilai warna/mL = $ab \ 440 \times \text{faktor pengenceran} \times 100 / \text{volume sampel}$

(Merah) Satuan nilai warna/mL = $ab \ 500 \times \text{faktor pengenceran} \times 100 / \text{volume sampel}$

Analisis Antioksidan DPPH

Analisis antioksidan dilakukan dengan disiapkan larutan stok DPPH 50 ppm dengan melarutkan 5 mg DPPH ke dalam 100 ml etanol PA. Disiapkan juga larutan kontrol yang berisi 2 ml etanol PA dan 1 ml larutan stok DPPH 50 ppm. Uji petik dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel kemudian dilarutkan dalam 4 ml aseton di dalam tabung reaksi lalu divortex selama 1 menit. Setelah divortex kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil 1 ml dan dicampur dengan larutan stok DPPH 50 ppm sebanyak 3 ml kemudian didiamkan selama 30 menit setelah itu diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Data yang diperoleh adalah % *Effective Scavenging* dan konsentrasi senyawa uji kemudian diolah menggunakan analisis regresi linier untuk mendapatkan konsentrasi penangkapan Aktivitas penangkapan radikal bebas 50% (IC50) (Himamura *et al.*, 2014).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi *Monascus* menunjukkan bahwa miselium *Monascus* yang berbentuk bulat (Gambar 1). Miselium yang tumbuh memenuhi cawan petri, serta hifanya berwarna putih. Hasil produksi ditunjukkan pada gambar 1 b, yakni serbuk spora dari beras yang telah ditumbuhi oleh *Monascus*.

Hasil uji pertumbuhan (Tabel 1) menunjukkan bahwa, pada hari pertama rerata panjang jari-jari pertumbuhan sekitar 1,72 cm. Pada hari ke-2 rerata pertumbuhan mencapai 3,36 dan pada hari ke-4 semua seragam pertumbuhannya mencapai 4,5 cm.

Gambar 1. Isolat *Monascus* dan serbuk angkak.Tabel 1. Pertumbuhan miselium *Monascus*.

Sampel	Panjang Pertumbuhan (cm)			
	0	1	2	3
1	0	1,5	2,6	4,5
2	0	1,3	3	4,5
3	0	2,1	3,6	4,5
4	0	1,3	1,5	4,5
5	0	1,6	2,1	4,5
6	0	1,8	3,8	4,5
7	0	1,8	3,5	4,5
8	0	1,8	4,5	4,5
9	0	2,2	4,5	4,5
10	0	1,8	4,5	4,5
Rerata	0	1,72	3,36	4,5

Tabel 2. Hasil analisis total karotenoid.

Pelarut	OD 450 nm	Total Karotenoid ug/mg
Heksana	38	0,59
Metanol	1202	18,55
Dietel eter	276	4,26
Kloroform	433	6,68

Hasil analisis pigmen menunjukkan bahwa adanya tingkat kelarutan pigmen yang dilarutkan dengan menggunakan pelarut A (heksana), B (metanol), C (dietil eter), dan D (kloroform) (Gambar 2). Masing-masing pelarut menunjukkan hasil yang berbeda tingkat kelarutannya terlihat dari warna yang berbeda yang dipertegas dari

hasil pola spektra yang ditunjukkan pada gambar 2b. Pada gambar 2b, pelarut metanol memiliki pola spektra dengan puncak serapan tertinggi, dibandingkan dengan 3 pelarut lainnya. Masing-masing pelarut memiliki pola spektra dengan 3 puncak serapan yang menandakan ada 3 pigmen berbeda. Tiga puncak serapan juga dipertegas pada gambar 2c yaitu fraksi pigmen dengan menggunakan KLT terdapat dapat 3 fraksi pigmen. Fraksi pigmen dengan menggunakan KLT didasarkan pada berat molekul pada masing-masing ditandai dengan RF yang berbeda.

Hasil analisis karotenoid menunjukkan bahwa total karotenoid mengalami perbedaan pada masing-masing jenis pelat (Tabel 2). Total karotenoid tertinggi diperoleh dengan menggunakan pelarut metanol, dikarenakan tingkat kelarutan pigmen yang tertinggi (Gambar 2b).

Karotenoid adalah pigmen yang memiliki sifat sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan pada *Monascus* ditunjukkan dalam tabel 4 didasarkan kurva standar (Gambar 3). Aktivitas antioksidan pigmen *Monascus* sebesar 4,22 ppm dikategorikan tinggi karena dibawah 50 ppm.

Monascus dapat dengan mudah ditemukan karena memiliki persebaran yang luas. Secara tradisional *Monascus* dapat peroleh secara alami dengan menggunakan media serealia. *Monascus* dapat dengan mudah tumbuh di beras merah, beras putih, dan beras ketan yang sudah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di Tiongkok (Panda *et al.*, 2010). Pada penelitian ini digunakan nasi yang dibiarkan di udara terbuka selama 1 - 5 hari agar ditumbuhi *Monascus* atau jamur angkak secara alami. Kehadiran *Monascus* ditandai adanya warna kuning atau merah muda yang lama kelamaan akan menebal di permukaan nasi.

Untuk mendapatkan isolat murni *Monascus*, maka jamur angkak pada nasi tersebut dicuplik dengan menggunakan jamur ose lalu digoreskan pada medium PDA yang khusus untuk pertumbuhan jamur. Pada medium PDA, jamur angkak akan tumbuh pada hari ke 2 dan semakin melebar pertumbuhannya pada hari ke 4. Awal pertumbuhan akan diawali dengan semakin

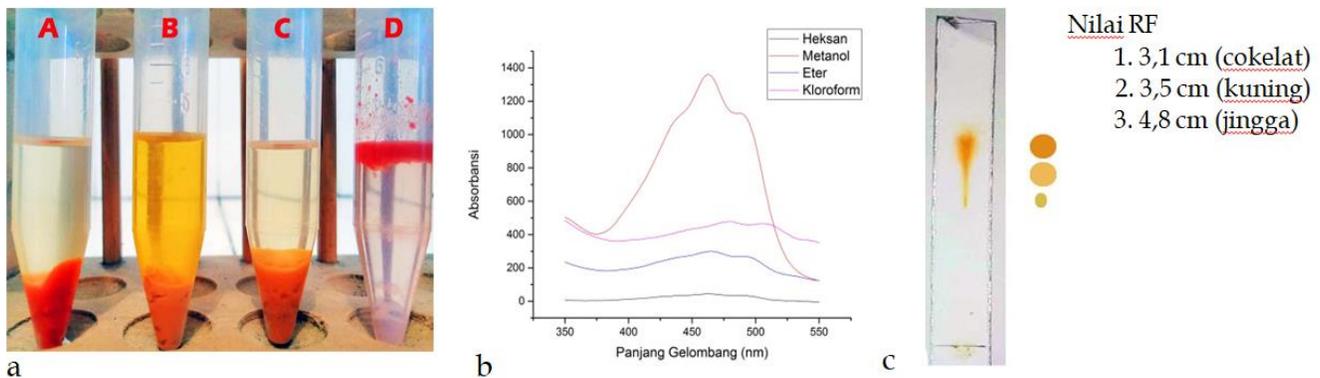
banyak dan melebarinya miselium yang berwarna putih. Miselium nantinya akan keluar hifa yang pada akhirnya muncul spora dan warna jamur angkak akan berubah kekuningan lalu menjadi jingga (Gambar 1a).

Pertumbuhan jamur angkak akan mulai terlihat pada hari kedua hingga puncaknya hari ke 5 (Gambar 1a; Tabel 1). Setelah 24 jam masa inkubasi miselium yang berwarna putih lalu akan berubah menjadi kuning muda dan jingga. Untuk memanen pigmen angkak, biasanya dilakukan pada hari ke-5 saat pertumbuhan maksimal. Serbuk angkak (substrat padat) yang berasal dari spora *Monascus* adalah produk berupa pigmen yang dapat digunakan secara langsung (Timotius, 2004). Pigmen dari *Monascus* dapat dipanen dengan cara pengayakan dan hasilnya seperti ditunjukkan pada gambar 1b. Pigmen angkak dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama dalam wadah yang kering, tertutup rapat, dan terhindar dari paparan cahaya dan panas.

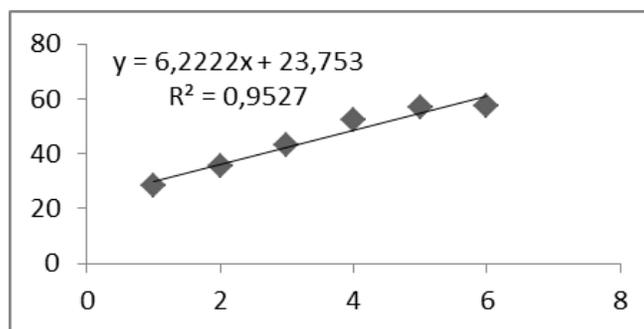
Analisis Pigmen *Monascus*

Warna jingga pada angkak adalah pigmen alami dari karotenoid. Karotenoid memiliki banyak jenis dan tergantung sumbernya. Dari hasil analisis dengan menggunakan spektrofotometer (Gambar 2b) dan fraksi dengan menggunakan KLT (Gambar 2c) terdapat pola yang sama yakni ada 3 jenis pigmen yang berbeda. Dengan menggunakan spektrofotometer terdeteksi 3 puncak serapan, Timotius (2004) mengatakan puncak serapan terjadi pada gelombang 370, 420, dan 500 nm untuk masing-masing untuk pigmen kuning, oranye, dan merah. Dengan KLT, teridentifikasi 3 jenis pigmen yang terpisah.

Timotius (2004), mengatakan pigmen *Monascus* dibedakan menjadi dua, yaitu pigmen intraseluler (tidak larut air), dan pigmen ekstraseluler (larut air). Tingkat kelarutan pigmen ditunjukkan pada gambar 1a, dimana tingkat kelarutan tertinggi adalah pada pelarut metanol, karena sifatnya yang



Gambar 2. Hasil ekstraksi pigmen angkak (a), pola spektra (b), dan KLT (c).



Gambar 3. Kurva standar untuk uji antioksidan pigmen *Monascus*.

Tabel 3. Total unit pigmen *Monascus*.

Pelarut	OD 440 nm	OD 500 nm	Jingga	Merah
Heksan	34	26	8,5	6,5
Metanol	1113	943	278,25	235,75
dietieter	265	251	66,25	62,75
Kloroform	227	257	56,75	64,25

Tabel 4. Aktivitas antioksidan pigmen *Monascus*.

Konsentrasi	OD Sampel	OD Blangko	%IC	Regresi Linear	yIC50	IC 50 (ppm)
1×10 ¹	0,484		28,29	y = 6,2222x + 23,753 R ² = 0,9527	50	4,22
1×10 ²	0,435		35,55			
2×10 ³	0,384	0,675	43,11			
3×10 ⁴	0,323		52,13			
4×10 ⁵	0,292		56,74			
5×10 ⁶	0,288		57,33			

semi polar (dapat melarutkan semua jenis pigmen). Pelarut heksan, dieti eter, dan kloroform bersifat non polar dan hanya dapat melarutkan pigmen yang tidak larut air. Heksan sangat baik untuk melarutkan pigmen kuning, metanol dapat digunakan untuk melarutkan pigmen kuning dan jingga, sedangkan dietil eter dan kloroform untuk pigmen kuning dan merah.

Tiga jenis pigmen yang terfraksi dengan menggunakan KLT kemungkinan adalah rubropuktatin dan monaskurubrin (pigmen jingga), ankaflavin dan monascin (pigmen kuning) rubropuktamin dan monaskorubramin (pigmen coklat) (Timotius, 2004). Menurut Hasim *et al* (2018), angkak mengandung turunan karotenoid berupa rubropunktatin, monaskorubin, dan ankaflavin. Silbir & Goksungur (2019), mengatakan ada 3 jenis pigmen dalam *Monascus* yakni pigmen merah (rubropunctamin dan monascurubramin), pigmen jingga (rubro-punctatin dan monascurubramin), dan pigmen kuning (monascin dan ankaflavin). Srientia *et al.* (2017) mengatakan terdapat 12 jenis pigmen pada *Monascus* yakni; rubropunctatin, monascorubrin, rubropunctamine, monasco-rubramine, monascin, ankaflavin, xanthomonascin A, xanthomonascin B, monascopyridine A, monascopyridine B, yellow II and monapilol B, namun dalam penelitiannya

hanya menemukan 2 yakni; monapilol B dan rubropunctamine. Perbedaan jenis pigmen tersebut dipengaruhi oleh spesies *Monascus*, jenis substrat, sumber nitrogen, pH, suhu, dan pengadukan.

Pigmen kuning, jingga, dan merah adalah representasi dari karotenoid. Karotenoid total adalah pigmen *Monascus* berbeda-beda konsentrasinya, tergantung dari pelarut yang digunakan. Dengan pelarut metanol konsentrasi total karotenoid adalah yang terbesar yakni 18,55 µg/g, sedangkan total pigmen jingga sebesar 278,25 unit/mL dan pigmen merah sebesar 235,75 unit/mL. Pada pelarut heksan, dietil eter, dan kloroform relatif sedikit.

Antioksidan Pigmen *Monascus*

Kandungan karotenoid atau pigmen yang ada di dalam *Monascus* juga dapat berperan sebagai antioksidan dan tidak bersifat toksik (Kaur *et al.*, 2008). Antioksidan di dalam pigmen *Monascus* memiliki aktifitas yang tinggi karena berada di bawah 50 ppm, yakni sebesar 4,22 ppm. Penelitian Hailing-Tan (2018) juga mengatakan aktifitas antioksidan pada *Monascus* yang ditumbuhkan pada beras sebesar 3.59±0.14 ppm. Perbedaan aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh substrat

dan warna dari pigmen yang dihasilkan (Wanti *et al.*, 2015).

Adanya kandungan antioksidan yang tinggi, pigmen *Monascus* banyak digunakan sebagai bahan obat-obatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit. Selain itu pigmen *Monascus* juga digunakan sebagai antikanker dan mencegah penyakit kardiovaskuler dengan memanfaatkan senyawa antioksidan di dalamnya (Pengnoi *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *Monascus* dapat diisolasi dari nasi sisa yang dibiarkan di lingkungan terbuka. Terdapat 3 fraksi pigmen yang dihasilkan dari isolat *Monascus*. *Monascus* mengandung total karotenoid 18,55 µg/g, total pigmen jingga 278,25 unit/mL dan pigmen merah 235,75 unit/mL. Aktivitas antioksidan pada pigmen *Monascus* sebesar 4,22 ppm dan masuk dalam kategori tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Dikshit, R., and P. Tallapragada. 2011. *Monascus purpureus*: A potential source for natural pigment production. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 1(4): 164-174.
- Booth, S.L., T. Johns and H.V. Kuhnlein. 1992. Natural food sources of vitamin A and provitamin A. *Food Nutr. Bull.* 14: 6-19.
- Hailing-Tan, X., Z. Chen, G. Tian, and X.Z. Wu. 2018. Evaluating antitumor and antioxidant activities of yellow *Monascus* pigments from *Monascus ruber* fermentation. *Molecules*. 23(3242): 1-12. doi:10.3390/molecules23123242.
- Hasim, Q. Hasanah, D. Andrianto, dan D.N. Faridah. 2018. Aktivitas antioksidan dan antihiperkolesterolemia *in vitro* dari campuran ekstrak angkak dan bekatul. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 29(2): 145-154.
- Himamura, T.S., Y.S. Umikura, T.Y. Amazaki, A.T. Ada, T.K. Ashiwagi, H.I. Shikawa, and H.U. Keda. 2014. Applicability of the DPPH assay for evaluating the antioxidant capacity of food additives-Inter-laboratory evaluation study. *Analytical Sciences*. 30: 717-721.
- Juzlova, P., L. Martinkova, and V.K. Yen. 1996. Secondary metabolites of the fungus *Monascus*: A review. *J. Ind. Microbiol.* 16: 163-170.
- Kaur, B., D. Chakrabortya, and H. Kaur. 2008. Production and evaluation of physicochemical properties of red pigment from *Monascus purpureus* MTCC 410. *The Internet Journal of Microbiology*. 7(1): 1-6.
- Mukherjee, G., and S.K. Singh. 2011. Purification and characterization of a new red pigment from *Monascus purpureus* in submerged fermentation. *Process Biochemistry*. 46: 188-192.
- Nuraida, L., S.H. Sihombing, dan S. Fardiaz. 1996. Produksi karotenoid pada limbah cair tahu, air kelapa dan onggok oleh kapang *Neurospora* sp. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*. 1: 67-74.
- Panda, B.O., S. Javed, and M. Ali. 2010. Production of angkak through co-culture of *Monascus Purpureus* and *Monascus Ruber*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41: 757-764.
- Pengnoi, P.M., R. Mahawan, C. Khanongnuch, and S. Lumyong. 2017. Antioxidant properties and production of monacolin K, citrinin, and red pigments during solid state fermentation of purple rice (*Oryzae sativa*) varieties by *Monascus purpureus*. *Czech J. Food Sci.* 35(1): 32-39.
- Rao, A.V., and L.G. Rao. 2007. Carotenoid and human health. *Pharmacological Research*. 55: 207-216.
- Rodriguez-amaya, D.B. 2001. *A Guide to Analysis In Food*. Washington: ILSI PRESS.
- Sheu, F., C.L. Wang, and Y.T. Shyu. 2000. Fermentation of *Monascus purpureus* on bacterial cellulose-nata and the color stability of *Monascus-nata* complex. *J. Food Science*. 65(2): 342-345.
- Silbir, S., and Y. Goksungur. 2019. Natural red pigment production by *Monascus Purpureus* in submerged fermentation systems using a food industry waste: Brewer's spent grain. *Foods*. 8(161): 2-14.
- Srianta, I., E. Zubaidah, T. Estiasih, Y. Iuchi, Harijono, and M. Yamada. 2017. Antioxidant activity of pigments derived from *Monascus purpureus* fermented rice, corn, and sorghum. *International Food Research Journal*. 24(3): 1186-1191.
- Steinkraus, H. 1983. *Indigenous fermented food*. Marcel. New York.
- Susanti, M.T. 1998. *Optimasi kondisi operasi proses produksi pigmen angkak pada fermentasi beras oleh Monascus purpureus*. Semarang: Universitas Diponegoro - Press.
- Timotius, K.H. 2004. Produksi angkak oleh *Monascus*. *Jurnal Teknol. dan Industri Pangan*. 15(1): 79-86.
- Wanti, S., M.A.M. Andriani, dan N.H.R. Parnanto. 2015. Pengaruh berbagai jenis beras terhadap aktivitas antioksidan pada angkak oleh *Monascus purpureus*. *Biofarmasi*. 13(1): 1-5.