

ANALISA PIGMEN MONASCUS SP YANG DITUMBUHKAN PADA BERBAGAI VARIETAS BERAS

Dhanang Puspita^{1*}, Lydia Ninan Lestario¹, Fitri Hayuningrat Al-janati¹

¹Teknologi Pangan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Kristen Satya Wacana

*Email korespondensi: dhanang.puspita@uksw.edu

DOI: [10.46201/jsb/vol4i1pp6-11](https://doi.org/10.46201/jsb/vol4i1pp6-11)

Diterima: 14 Maret 2023 | Direvisi: 18 April 2023 | Diterbitkan: 30 April 2023

ABSTRAK

Monascus sp. adalah salah satu organisme multiseluler yang mampu menghasilkan pigmen alami. Monascus dapat tumbuh di media yang mengandung pati. Monascus dapat tumbuh di media yang mengandung pati. Pigmen Monascus banyak digunakan sebagai pewarna makanan dan minuman, karena tidak beracun. Beras banyak digunakan sebagai media pertumbuhan, salah satunya digunakan untuk produksi angkak. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa jenis-jenis pigmen yang dihasilkan oleh Monascus sp. yang ditumbuhkan di beberapa jenis varietas beras. Penelitian ini terdiri dari 3 tahap yaitu; isolasi Monascus sp., produksi pigmen, ekstraksi dan analisa pigmen. Hasil penelitian menunjukkan, semua jenis beras dapat dijadikan media pertumbuhan Monascus sp. Terdapat 5 jenis pigmen yang dapat diidentifikasi yaitu; Mutatochrome, Oscillaxanthin, Semi- β -carotenone, Rhodoxanthin, dan Eschscholtz xanthin

Kata kunci: angkak, beras, monascus, pigment.

ABSTRACT

Monascus sp. is a multicellular organism capable of producing natural pigments. Monascus can grow in media containing starch. Natural pigments in Monascus are widely used in food and beverage products, and these pigments are not toxic. Rice is a growth medium for Monascus sp. and is widely used in the production of Angkak. This study aims to analyze the types of pigments produced by Monascus sp which are grown in several types of rice varieties. This research consists of 3 stages namely; Monascus sp. isolation, pigment production, pigment extraction and analysis. The results showed that all types of rice can be used as growth media for Monascus sp. There are 5 types of pigments that can be identified namely; Mutatochrome, Oscillaxanthin, Semi- β -carotenone, Rhodoxanthin and Eschscholtz xanthin.

Keywords: angkak, rice, monascus, pigment.

A. LATAR BELAKANG

Jamur diketahui mampu menghasilkan pewarna alami dari metabolit sekunder, salah satunya adalah *Monascus sp.* pigmen dari *Monascus sp.* sudah digunakan sejak dulu kala sebagai bahan untuk memberi warna pada makanan. Pewarnaan makanan dengan menggunakan pigmen *Monascus sp.* banyak dilakukan oleh masyarakat Tiongkok. Genus *Monascus* terdapat beberapa spesies seperti; *Monascus purpureus*, *Monascus ruber*, *Monascus anka*, *Monascus pilosus*, *Monascus floridamus*, *Monascus pollens* dan *Monascus sanguineus*. (Yuliana dkk, 2016).

Pigmen dari *Monascus sp.* juga dikenal dengan sebutan *angkak* (bahasa Jawa), dimana untuk mendapatkan pigmen alami ini digunakan beras merah sebagai media pertumbuhannya, meskipun *Monascus sp.* dapat dengan mudah tumbuh medium yang mengandung pati. Pigmen alami dari *Monascus sp.* memiliki warna yang seragam yakni kuning, jingga, dan merah. Pigmen tersebut juga tidak mengandung racun, sehingga aman untuk dikonsumsi. Kelebihan lain dari pigmen *angkak* adalah tidak mengganggu fungsi fisiologis tubuh dan imunitas seseorang yang mengonsumsinya (Indrawati dkk, 2010).

Pigmen alami pada angkak memiliki 6 jenis yakni; monascorubramine dan rubropunctamine (merah), monascoflavin atau monascin dan ankaflavin (kuning), rubropunctatin dan monascorubrin (jingga). Selain dari 6 jenis pigmen alami tersebut, terdapat 8 pigmen alami lain pada angkak, yakni *ubropunctatin*, *monascorubrin*, *monascin*, *ankaflavin*, *rubropunctamine*, *monascorubramine*, *xanthomonasin A* dan *xanthomonasin B* (Indriati dan Andayani, 2012). Pigmen-pigmen tersebut dihasilkan *Monascus* sp. melalui jalur biosintesis poliketida, pada jalur ini juga dihasilkan senyawa antibakteri berupa monascidin A dan monakolin K sebagai anti hiperkoleserolemia (Timotius, 2004).

Habitat *Monascus* sp. yang baik adalah di media yang mengandung karbohidrat dan protein yang digunakan sebagai nutrisi untuk menghasilkan pigmen alami dan pertumbuhan (Dhanutirto, 2000). Pada penelitian, akan dilakukan eksplorasi pada berbagai varietas beras yang ditumbuhi angkak secara alami. Berbagai varietas beras yang ada di pasaran sangat beragam, baik dilihat dari warna ataupun kandungan jenis patinya. Ada kemungkinan, beras-beras tersebut akan menghasilkan perbedaan jenis pigmen angkak baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Dengan demikian, hasil penelitian ini nantinya bisa dijadikan acuan untuk pemilihan varietas beras yang digunakan dalam produksi angkak. Tujuan dari penelitian ini adalah analisa pigmen alami dari *Monascus* sp. yang tumbuh di beberapa varietas beras.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Kristen Satya Wacana, pada bulan Oktober – Desember 2022. Metode penelitian meliputi; isolasi *Monascus* sp., produksi dan ekstraksi pigmen *Monascus* sp., dan analisa pigmen. Bahan-bahan yang digunakan adalah media Potatto Dextrose Agar (Merck), akuades steril, alkohol 70%,

Metanol (Merck), Eter (Merck), Heksana (Merck), Kloroform (Merck), dan media pertumbuhan (beras putih, beras merah, beras singkong, dan beras ketan hitam). Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer (Genesys 10S UV- VIS), Centrifuge (Hettich Zentrifuge), Autoclaf (All-American), tabung centrifuge (Corning), timbangan analitik (Ohaus), Vortex (Vielp scientifica), Micropipet (DLab), kuvet (Spectra cuvette), magnetic stirrer (IKA), hotplate (Dlab), inkubator (Memmert).

Isolasi *Monascus* sp.

Media isolasi *Monascus* sp. digunakan PDA 11 g yang dilarutkan di 250 mL aquades kemudian dipanaskan di atas *hot plate*, setelah itu disterilkan dengan autoclave selama 15 menit pada tekanan 2 ATM dan suhu 121°C, dan tahap akhir adalah penuangan dalam cawan petri secara aseptis. Sumber *Monascus* sp. diperoleh secara alami atau liar, dengan cara menjebak dengan menggunakan nasi yang dipapar di udara terbuka. Keberadaan *Monascus* sp. liar ditandai dengan adanya kapang berwarna kuning, jingga atau merah. Kapang kemudian dicuplik dengan jarum ose untuk dikucilkan dalam media PDA lalu diinkubasi selama 2 – 3 hari dalam inkubator pada suhu 27°C (Puspita dkk, 2020).

Produksi dan ekstraksi Pigmen *Monascus* sp.

Menggunakan 3 jenis beras dengan varietas yang berbeda dan satu dari singkong yang dibuat menjadi beras. Media uji dibuat empat perlakuan yakni; beras putih, beras merah, beras singkong, dan beras hitam yang semuanya sudah dikukus terlebih dahulu selama 25 menit. Setelah matang (menjadi nasi) kemudian dipindahkan dalam nampan dan setelah dingin diinokulasikan dengan isolat *Monascus* sp, lalu diinkubasi dalam suhu ruang dengan penyinaran lampu TL 30 watt selama 5 hari. Setelah diinkubasi, permukaan media yang telah dipenuhi dengan kapang dilakukan pemanenan pigmen dengan cara menggerus

permukaan media hingga didapatkan serbuk kapang.

Ekstraksi Pigmen *Monascus* sp.

Sebanyak 0,2 g serbuk kapang dari masing-masing media pertumbuhan dilarutkan dalam 4 pelarut yaitu : eter, metanol, heksan, dan kloroform masing-masing sebanyak 5 ml. lalu sampel disonikator tujuannya untuk memecah senyawa atau memecah dinding sel pada *Monascus* sp., kemudian dihomogenkan dengan vortex selama kurang lebih 1 menit dan setelah itu disentrifugasi pada 3.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan kemudian untuk analisis pigmen.

Analisis Pigmen dengan Spektrofotometer dan KLT

Sebanyak 3 ml supernatan dituangkan dari masing-masing pelarut kemudian pindai dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 400 – 500 nm. Hasil pemindaian kemudian diproses menggunakan software OriginLab versi 2022 untuk mendapatkan pola spektra dan puncak serapan. Analisa KLT dilakukan dengan menotolkan 1 mL supernatan yang sebelumnya telah dipekatkan dengan penguapan udara panas. Supernatan pekat kemudian ditotolkan ke plat KLT menggunakan pipa kapiler, lalu direndam dalam larutan yang mengandung eluen (1:1:1:1); heksana, metanol, dietil eter, dan kloroform, kemudian diamati fraksi pigmen yang terbentuk.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pertumbuhan *Monascus* sp. di empat jenis medium disajikan pada gambar 1. Setelah pemeraman selama 5 hari, terlihat *Monascus* sp. dengan miselium dan hifa yang berwarna jingga pada beras putih, singkong, dan ketan hitam, sedangkan beras merah pigmennya berwarna merah.

Munculnya warna kuning, jingga, dan merah dalam serabut miselium atau hifa adalah indikator keberadaan angkak yang sangat mudah dikenali. Perbedaan warna yang muncul yakni merah muda

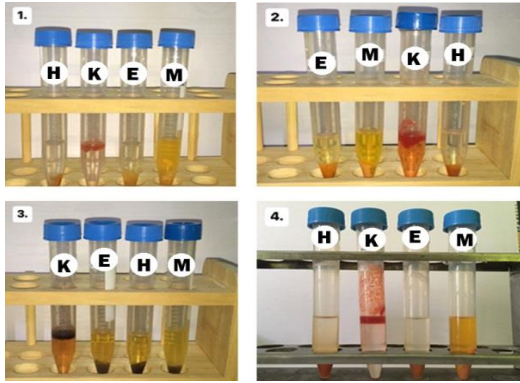
dan kuning dikarenakan perbedaan medium pertumbuhan, dimana masing-masing jenis beras akan memengaruhi pigmentasi angkak (Ungureanu, 2012), (Sastrawidana dkk, 2015).



Gambar 1. Warna *Monascus* sp. pada berbagai varietas beras.

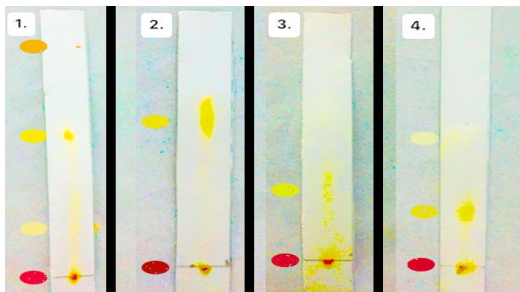
Hasil ekstraksi pigmen *Monascus* sp. ditunjukkan pada Gambar 2. Dalam penelitian ini, digunakan empat pelarut yaitu; metanol, kloroform, eter, dan heksana, yang digunakan untuk mengekstrak sampel pigmen dari beras putih, beras merah, beras singkong, dan beras ketan hitam. Tujuan dari ekstraksi pigmen *Monascus* sp. adalah untuk melepaskan metabolit sekunder berupa pigmennya. Feng dkk (2012) menyebutkan, jika zat warna pada *Monascus* sp. sukar larut dalam air (hidrofobik), akan tetapi dapat dengan mudah larut dalam pelarut organik yang hidrofilik dan salah satunya adalah methanol, bisa juga dengan menggunakan heksan, eter, dan kloroform.

Masing-masing pelarut ini memiliki karakteristiknya sendiri-sendiri berkaitan dengan polaritasnya dan semuanya adalah non polar, sedangkan metanol adalah pelarut yang universal (dapat melarutkan senyawa polar dan non polar). Hasil ekstraksi pigmen *Monascus* sp. dari beras putih, beras merah, beras singkong, dan ketan hitam dapat larut kedalam pelarut metanol yang menghasilkan supernatan berwarna kuning, kloroform berwarna merah, heksana dan etera berwarna kuning muda. Dengan demikian tidak semua pigmen dapat larut dari satu jenis pelarut, dengan demikian perlu diketahui ragam jenis pigmen didasarkan molaritasnya dengan analisa kromatografi lapis tipis (KLT).



Gambar 2. Hasil ekstrak pigmen beras putih (1), ekstrak pigmen beras merah (2), ekstrak pigmen ketan hitam (3), dan ekstrak pigmen beras singkong (4) dengan pelarut ; H (heksan), K (kloroform), E (eter), dan M (Metanol).

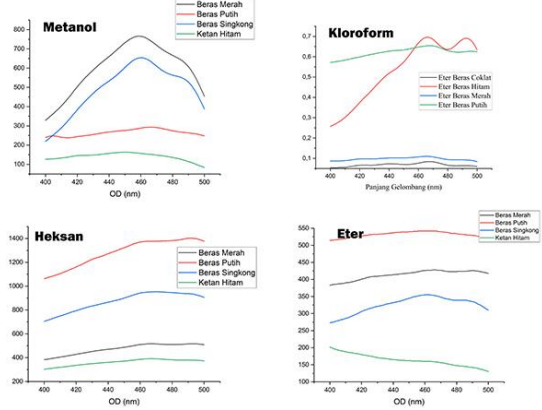
Dalam analisis KLT digunakan eluen atau pelarut fase gerak dengan menggunakan; metanol, kloroform, eter, dan, heksana dengan perbandingan 1:1:1:1. Hasil pengujian KLT ditunjukkan pada gambar 3, dan diperoleh farksi warna dari masing-masing sampel.



Gambar 3. Hasil Analisis KLT *Monascus* sampel beras putih (1), beras merah (2), beras singkong (3), dan beras ketan hitam (4).

Beras putih hitam menghasilkan empat fraksi warna (merah, kuning muda, kuning tua dan merah mudah), beras ketan menghasilkan tiga fraksi warna (merah, kuning tua, dan kuning muda), sedangkan beras merah dan beras singkong menghasilkan dua fraksi warna yakni merah dan kuning tua. Dengan KLT dapat dilihat secara visual ragam jenis pigmen pada masing-masing sampel didasarkan pada jenis warnanya dan molaritasnya. Pigmen dengan berat molekul paling ringan akan berada di

atas, sedangkan yang terberat akan ada di dasar. Untuk melihat pigmen secara kuantitatif dapat dilakukan dengan pemindaian pada spektrofotometer didasarkan pada serapan optis pada setiap panjang gelombang.



Gambar 5. Pola spektra masing-masing jenis pelarut terhadap pigmen.

Panjang gelombang untuk spektrum warna kuning hingga merah pada spektrofotometer dapat digunakan dengan panjang gelombang 400 – 500 nm. Pigmen yang sudah dilarutkan dalam pelarut; metanol, eter, kloroform, dan heksana akan menyerap cahaya yang dipaparkan sehingga masing-masing akan terlihat puncak serapannya seperti yang ditunjukkan pada gambar 5. Hasil serapan tersebut kemudian dianalisa untuk mendapatkan posisi panjang gelombang dan puncak serapannya (*peak*). Hasil analisa kemudian dihitung secara matematis didasarkan pada Britton dkk (1995) dan disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Pola spektra serapan pigmen *Monascus sp.* pada masing-masing pelarut dan jenis serta jumlah pigmennya.

Substrat	λ	OD	A 1%/1cm	Jumlah Pigmen (mg/g)
Beras Putih	462	0,46	2760	0,0334
	490	0,495	2500	0,0392
Beras Merah	428	0,426	2260	0,0568
	467	0,466	1850	0,0504
	490	0,493	2500	0,0392
Beras Singkong	490	0,487	750	0,1298
Beras Singkong	472	0,47	3269	0,0288
Ketan	467	0,468	1850	0,0504

Didasarkan pemindaian pada pada panjang gelombang 400 – 500 nm diperoleh puncak serapan di angka 428, 490, 467, 490, 462, 472, dan 467 nm. Puncak-puncak serapan tersebut dilihat didasarkan pada masing-masing jenis pelarut yang nantinya akan menentukan besaran A 1%/1cm.

Hasil analisa menunjukkan, beras merah memiliki peak 428 nm memiliki jenis pigmen karoten *Mutatochrome* sejumlah 0,0568 mg/g (Mostafa, 2019). Beras singkong pada peak 490 nm ditandai memiliki serapan pigmen karoten *Oscillaxanthin* sebanyak 0,0392 mg/g (Margono dkk, 2021), beras merah pada panjang gelombang 467 dan 490 ditandai memiliki serapan pigmen karoten *Semi- β -carotenone* dan *Rhodoxanthin* dan masing-masing berjumlah 0,0504 mg/g dan 0,0392 mg/g (Vargas dkk, 2020). Pada beras putih pada panjang gelombang 462 dan 490 ditandai memiliki serapan pigmen karoten β,γ -Carotene dan *Rhodoxanthin* dan masing-masing sebanyak 0,0334 mg/g dan 0,0392 mg/g, beras singkong pada panjang gelombang 472 ditandai memiliki serapan pigmen karoten *Eschscholtz xanthin* sebanyak 0,0288 mg/g, dan ketan hitam pada panjang gelombang 467 ditandai memiliki serapan pigmen karoten *Semi- β -carotenone* sebanyak 0,0504 mg/g (Britton et al., 1995).

D. KESIMPULAN

Dapat disimpulkan, keempat jenis beras dapat di gunakan sebagai media pertumbuhan *Monascus* sp. dan dapat menghasilkan pigmen. Beras merah mampu menghasilkan tiga jenis pigmen, beras putih dan singkong menghasilkan dua jenis pigmen, sedangkan beras hitam hanya menghasilkan satu jenis pigmen didasarkan puncak serapan. Adapun jenis pigmen yang dihasilkan adalah *Mutatochrome*, *Oscillaxanthin*, *Semi- β -carotenone*, *Rhodoxanthin*, dan *Eschscholtz xanthin*.

DAFTAR PUSTAKA

- Britton, G., Liaaen, J. S., and Pfander, H. 1995. Carotenoids. Volume 1B: Spectroscopy.
- Dhanutirto, H., A. Musadad dan M. Singgih. 2000. Produksi Zat Warna Alam Melalui Fermentasi *Monascus purpureus* serta Pengaruh Berbagai Sumber Nitrogen. Kongres Ilmiah Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia ke XIII.
- Feng, Y., Shao, Y., and Chen, F. 2012. *Monascus* pigments. Appl Microbiol Biotechnol, 96: 1421-1440.
- Indrawati T, Tisnadjaja D, Ismawatie. 2010. Pengaruh Suhu dan Cahaya terhadap Stabilitas Angkak Hasil Fermentasi *Monascus puepureus* 3090 pada Beras. Jurnal Program Studi Farmasi; FMIPA-ISTN.
- Indriati N., Andayani F. 2012. Pemanfaatan Angkak Sebagai Pewarna Alami pada Terasi Udang. JPB Perikanan Vol. 7 No. 1: 11-20.
- Mostafa E.M. 2019. Journal of Yeast and Fungal Research. Fungal and yeast carotenoids. Vol. 10(2), pp. 30-44.
- Margono, Paryanto, Hanifa V, Abimanyu C. 2021. Production of Natural Colorant by *Monascus Purpureus* FNCC 6008 using Rice and Cassava as Carbon Substrates Jurnal Bahan Alam Terbarukan. Vol.10(1);24 – 30.
- Puspita, D., Putri, I. K., Al-Janati, F. H., & Mulyanto, M. M. (2020). Isolasi, Identifikasi Pigmen, dan Analisis Aktivitas Antioksidan Pigmen *Monascus*. Jurnal Biologi Papua, 12(2), 102–108. <https://doi.org/10.31957/jbp.1148>
- Sastrawidana I.D.K., Maryam S., Sudiana I.K. 2015. Pigmen Merah dari Jamur yang Diisolasi dari Tanah Tempat Pembuangan Limbah Susu. Jurnal Kimia 9 (1): 7-12
- Timotius, K.H. 2004. Produksi pigmen angkak oleh *Monascus*. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. Vol. 15 (1) : 79-86.
- Ungureanu, C. 2012. Antibacterial and antifungal activity of red rice

- obtained from *Monascus purpureus*.
Journal of biopharmacy 48(1):885-894
- Yuliana A., Singgih M., Julianti E., Blanc P.J.
2016. Derivates of Azaphilone
Monascus Pigments. Biocatalysis and
Agricultural Biotechnology : 1-15.
- Vargas F.D, Jimenez A.R, Lopez O,P. 2020.
Natural Pigments: Carotenoids,
Anthocyanins, and Betalains —
Characteristics, Biosynthesis,
Processing, and Stability. Critical
Reviews in Food Science and
Nutrition. Vol.40(3):173–289