

Analisis Kualitas Produk Fermentasi Beras (Red Fermented Rice) dengan *Monascus purpureus* 3090

The analysis of the quality of red fermented rice (RFR) product with *Monascus purpureus* 3090

DJUMHAWAN R. PERMANA^A, SUNNATI MARZUKI, D. TISNADJAJA

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Cibinong - Bogor 16911

Diterima: 31 Agustus 2003. Disetujui: 15 Desember 2003.

ABSTRACT

Analysis of red fermented rice product with *Monascus purpureus* 3090 was conducted on monascus floor product (MFP-264), MFP-244 and rice monascus product (RMP). Evaluation of microbiological, pigment intensity and lovastatine content analysis result was aimed to see quality differences on each production of 5 kg rice raw material. Of both product types (MFP-264, RMP) which only oven dried compare to MFP-244 which is sterilized in autoclave showed a significantly difference of population level on total microorganism colonies, that is mould 26×10^6 propagule/ml, bacteria 13×10^6 cell/ml (MFP-264), mould 85×10^6 propagule/ml, bacteria 265×10^6 cell/ml (RMP). The MFP-244 produced highest absorption spectra 0.3513-0.4050 compare to MFP-264 0.3110-0.3324, rice monascus product (RMP) 0.3343-0.3663. Pigment biosynthesis seems occurred at sexual developmental stage or conidia formation of *M. purpureus* 3090, which is produced color changes of yellow pigment, orange pigment, and red pigment. Lovastatine content of MFP-264 has Rf value 0.84 MFP-244 Rf 0.83 and RMP Rf 0.82 showed higher value compare to Rf 0.81 of the lovastatine standard solution.

© 2004 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: quality analysis, rice fermented product, *Monascus purpureus* 3090.

PENDAHULUAN

Red Fermented Rice (RFR) dikenal juga dengan nama angkak merupakan hasil fermentasi beras yang menggunakan kapang *Monascus purpureus*. Angkak berasal dari Cina yang dikenal pula dengan nama *angquac*, *red rice*, *Chinese red rice*, *beni koji*, dan *aga koji* (Church dalam Palo *et al.*, 1960). Di Taiwan pembuatan angkak menggunakan *M. anka nakagawa* dan *M. anka sato*. Jenis lain yang sering digunakan adalah *M. ruber*, *Monascus F-2*, *M. brospunctatus* dan *M. rubiginous*. Dari beberapa strain kapang monascus yang paling banyak digunakan adalah *M. purpureus* NRRL 2897 karena menghasilkan kadar pigmen yang tinggi (Broder *et al.*, 1980). *Monascus* mampu memproduksi pigmen kuning dari monascin dan ankaflavin, pigmen jingga dan merah dari rubropungtamine dan monascorubin, pigmen rubropunctatin dan monascorubramin (Sherperd, 1977). Selain memproduksi pigmen, *Monascus* juga

menghasilkan enzim α dan β -amilase, glukoamilase, protease, dan lipase (Lin, 1973; Steinkraus, 1983). Sedangkan adanya senyawa statin berkhasiat bagi kesehatan tubuh. *Monascus* dalam bentuk tepung dapat dijadikan campuran makanan dan minuman suplemen sebagai penurun kadar kolesterol. Kegunaan monascus dapat mengobati berbagai penyakit termasuk infeksi, gangguan pencernaan termasuk diare, dan meningkatkan sirkulasi darah. Berdasarkan resep obat-obatan Cina, angkak menyembuhkan penyakit asma dan kelainan urinasi (Steinkraus, 1998). 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). Pembuatan RFR dilakukan dengan menggunakan bahan dasar beras sebagai substrat media tumbuh kapang *M. purpureus*. Di Thailand salah satu jenis beras *khao-mali* menghasilkan angkak yang berwarna gelap keungu-unguan dengan pigmen menembus ke seluruh bagian dalam beras.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi hasil produksi tepung monascus pada skala 5 kg bahan baku beras meliputi, uji mikrobiologi, uji pigmen, dan kandungan lovastatin.

▼ Alamat korespondensi:

Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong-Bogor 16911.
Tel.: +62-21-8754587. Fax.: +62-21-8754588.

BAHAN DAN METODE

Proses pengolahan bahan baku beras menjadi produk tepung monascus disajikan pada Gambar 1.

Bahan

Mikroorganisme.

Mikroorganisme yang digunakan pada penelitian ini adalah *M. purpureus* 3090 dari koleksi biakan Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI Cibinong-Bogor.

Beras. Beras yang digunakan adalah beras putih dengan kualitas cukup baik dan tidak terlalu lengket.

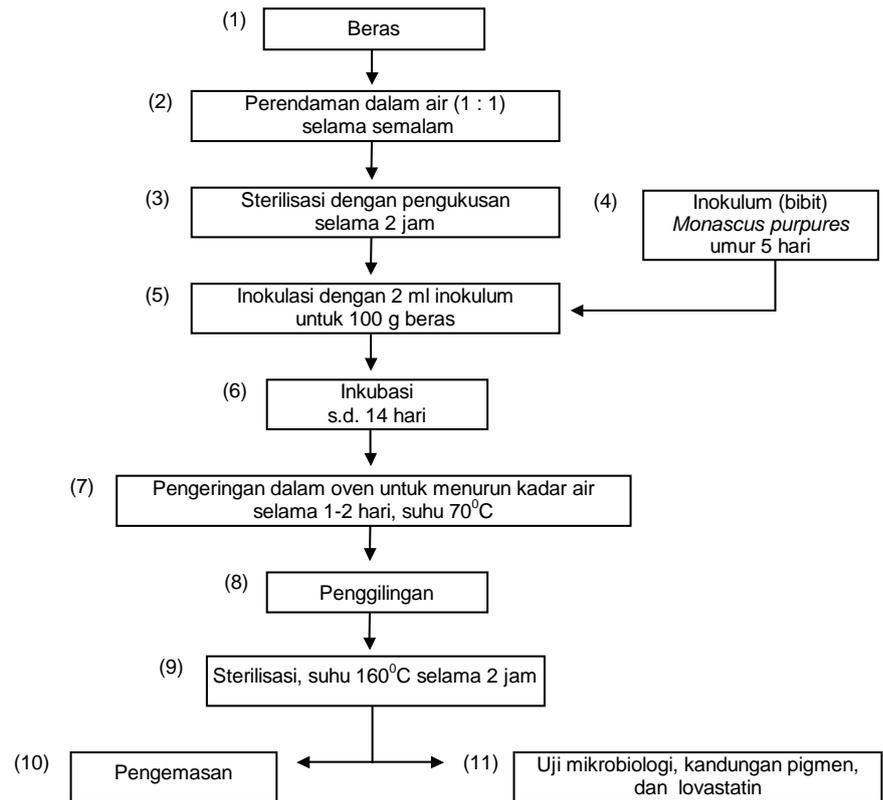
Media. Biakan persediaan (*stock culture*) ditumbuhkan pada medium agar kentang dektrose (PDA) miring (Difco, USA) dan secara rutin diremajakan se-tiap 2-3 bulan. Pengembangan inokulum dilakukan dengan menggunakan labu erlenmeyer 250 ml yang berisi medium cair terdiri dari: 0,5 g KH_2PO_4 , 0,3 g NaNO_3 , 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g MSG, dan 0,002 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Semua bahan tersebut dilarutkan dalam 200 ml akuades dan dikocok sampai homogen dengan menggunakan *shaker*. Setelah itu diinokulasi dengan 5 ml suspensi spora *M. purpureus* dari PDA miring yang berumur 5 hari. Inkubasi dilakukan dengan menggunakan *rotary shaker* pada suhu 30°C selama 5 hari.

Inokulum 2 ml dimasukkan ke dalam media beras dalam botol yang telah disiapkan sebelumnya. Botol-botol beras diletakkan dalam rak berada pada ruang inkubasi. Pengamatan secara visual dilakukan setiap hari serta setiap 2 hari botol-botol tersebut harus dikocok agar pertumbuhannya merata. Proses inkubasi atau fermentasi dilakukan selama 14 hari yang selanjutnya dilakukan pemanenan.

Analisis mikrobiologi

Perhitungan koloni untuk menghitung jumlah total pertumbuhan mikroorganisme kapang dan bakteri dilakukan dengan cara pengenceran. Pengertian istilah propagul diberikan bagi kapang sebagai struktur reproduksi dalam bentuk potongan populasi hifa atau miselium. Sedangkan pengertian koloni diberikan untuk bakteri yang diartikan sebagai bagian dari populasi individu mikroorganisme dari jenis yang sama setelah dipisahkan (Parker, 1986).

Sampel yang dianalisis terdiri dari 1 contoh produk tepung monascus tidak disterilkan, 1 contoh produk monascus beras tidak disterilkan dan 1 contoh produk



Gambar 1. Alur produksi tepung monascus.

tepung monascus yang disterilkan. Sampel sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 99 ml akuades steril, lalu dikocok dengan *shaker* hingga homogen selama 5 menit, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Dari pengenceran 10^{-2} ini diambil 1 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-3} dan seterusnya dilakukan perlakuan sama sampai pengenceran 10^{-6} . Masing-masing pengenceran 10^{-6} dari kapang dan bakteri dipipet 0,1 ml dan diinokulasikan ke dalam media agar PDA pada cawan petri untuk kapang, sedangkan bakteri digunakan media nutrisi agar (NA). Kedua kultur diinkubasi pada suhu 28°C untuk kapang dan 32°C untuk bakteri, masing-masing selama 48 jam.

Analisis intensitas pigmen

Kandungan pigmen yang terdapat dalam RFR diukur berdasarkan absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 354 nm, 388 nm, dan 401 nm. Sebanyak 0,1 g masing-masing contoh produk monascus (RFR) ditimbang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu diekstrak dengan 7,5 ml etanol 40%, dikocok menggunakan vortex selama 1 menit lalu dibiarkan mengendap. Larutan diekstraksi kembali sebanyak 3 kali, disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 10.000 rpm. Larutan jernih dipipet 1 ml, lalu diencerkan 10 kali dengan akuades.

Analisis kualitatif lovastatin

Lovastatin dapat dipisahkan dengan ekstraksi kloroform. Pemisahan hasil ekstraksi diuji secara kualitatif menggunakan metode kromatografi lapisan tipis (*thin layer chromatography*; TLC) pada plate 25 DC-Alufollin 20x20 cm, 25 TLC alumunium sheet 20x20 cm, Silica gel (60 F24). Kandungan lovastatin dilihat berdasarkan perbedaan migrasi eluen (CHCl_3 : $\text{CH}_3\text{OH} = 5 : 1$) (v/v). Perhitungan Rf ditentukan sesuai yang dilakukan Moestofa (2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji mikrobiologi ketiga macam produk monascus dengan cara pengenceran (*dilution method*) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata jumlah propagul kapang dan koloni bakteri dari 3 produk monascus setelah diinkubasi 48 jam.

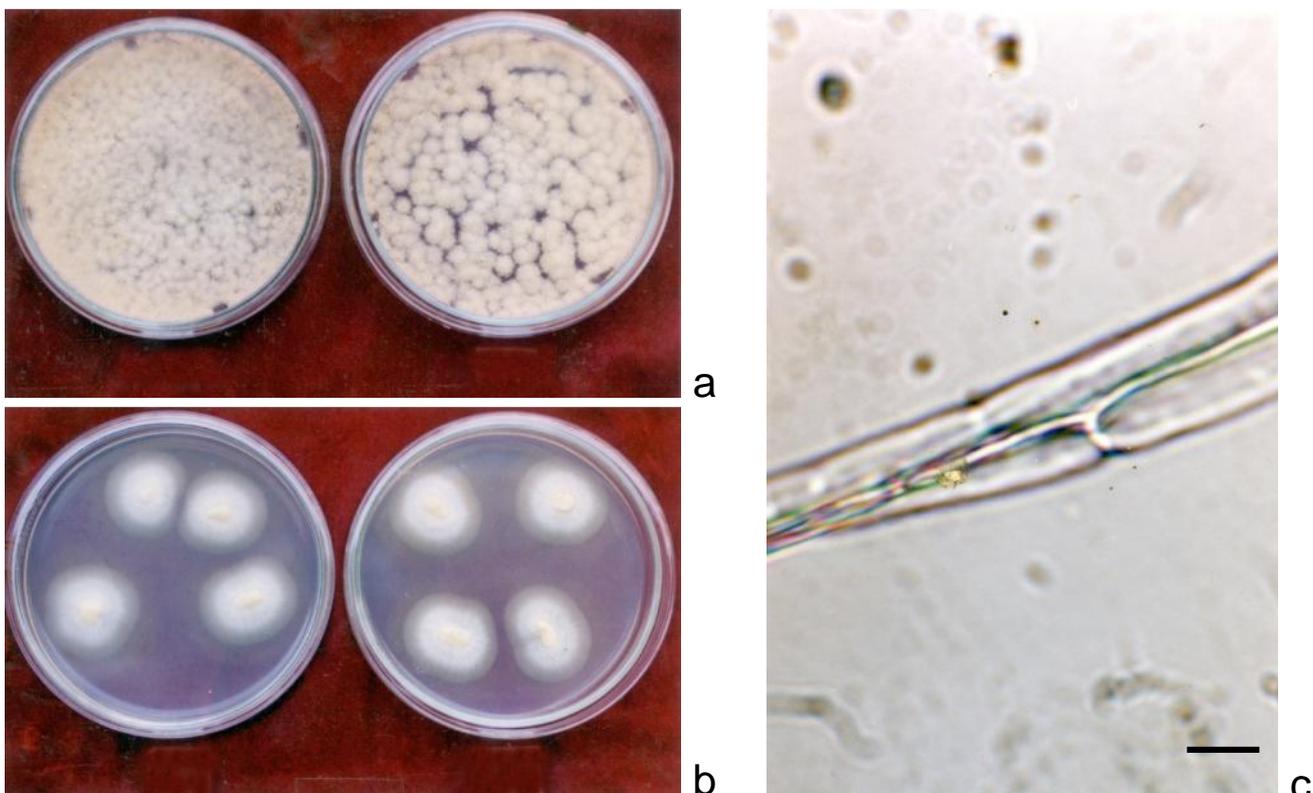
Produk	Kapang $\text{Nx}10^6$ propagul/ml	Bakteri $\text{Nx}10^6$ sel/ml
Produk monascus tepung (PTM-264)	26	13
Produk monascus tepung steril (PTM-244)*	tt	tt
Produk monascus beras (PMB)	85	56

Keterangan: *) disterilkan pada autoklaf (suhu $121\text{ }^\circ\text{C}$: waktu 15 menit), tt = tidak tumbuh.

PTM-264 mengandung jumlah total propagul kapang sebanyak 26×10^6 propagul/ml dan koloni bakteri sebanyak 13×10^6 sel/ml. Sementara jumlah total propagul kapang maupun koloni sel bakteri pada PTM-244 yang melalui proses sterilisasi tidak menunjukkan pertumbuhan mikroorganisme. Pertumbuhan kapang maupun bakteri ditemukan relatif lebih banyak pada sampel PMB (Tabel 1.) kemungkinan hal ini disebabkan oleh kadar air yang lebih tinggi dalam partikel beras dibandingkan dengan bentuk tepung monascus.

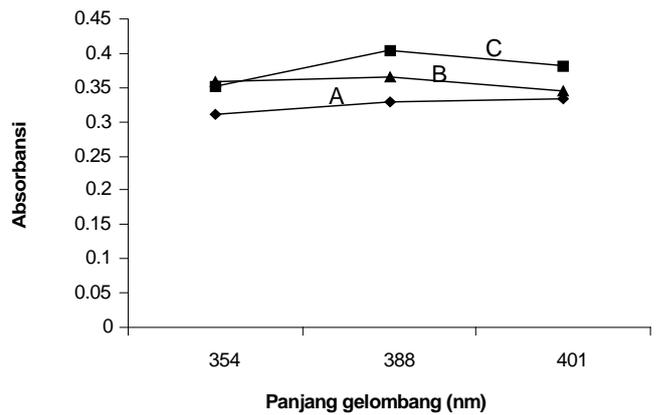
Hasil permurnian dan identifikasi kapang secara morfologi diperoleh isolat kapang, yaitu: *Trichoderma* sp. sebagai kontaminan dan *M. purpureus*. Kedua jenis kapang itu diperoleh dari PTM-264 yang tidak mengalami sterilisasi autoklaf. Produk tepung monascus steril (PTM-244) tidak menunjukkan pertumbuhan kapang. Hal itu disebabkan PTM-244 sebelum dianalisis dilakukan sterilisasi terlebih dahulu dibandingkan PTM-264 yang hanya mengalami proses pemanasan dengan suhu oven. Pada produk monascus beras (PMB) jumlah total pertumbuhan kapang maupun bakteri lebih tinggi dibandingkan PTM-264.

Pada Gambar 2. ditunjukkan bentuk pertumbuhan kapang *Trichoderma* sp. Kapang ini dipertelakan sebagai salah satu kapang kontaminan pada produk tepung monascus yang diakibatkan proses sterilisasi kurang efektif.

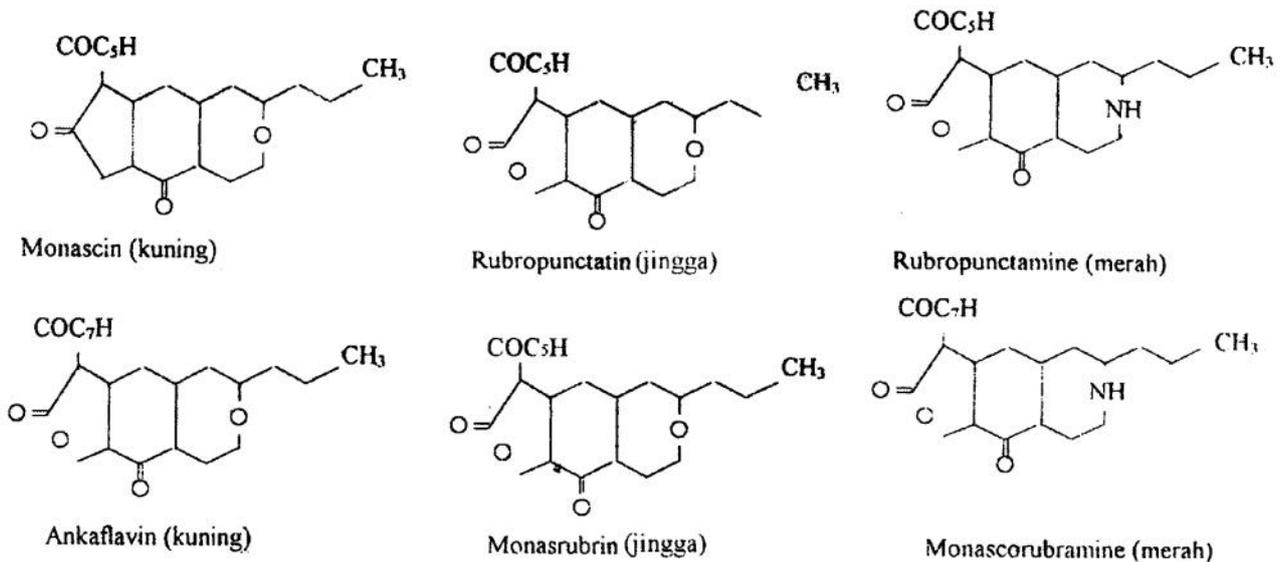


Gambar 2. A. Pertumbuhan spora kapang *Trichoderma* sp., B. Pertumbuhan isolat murni pada media PDA di cawan petri umur 2 hari, C. Bagian hifa dari morfologi *Trichoderma* sp. Pembesaran 1000 x. Garis = 5 μm .

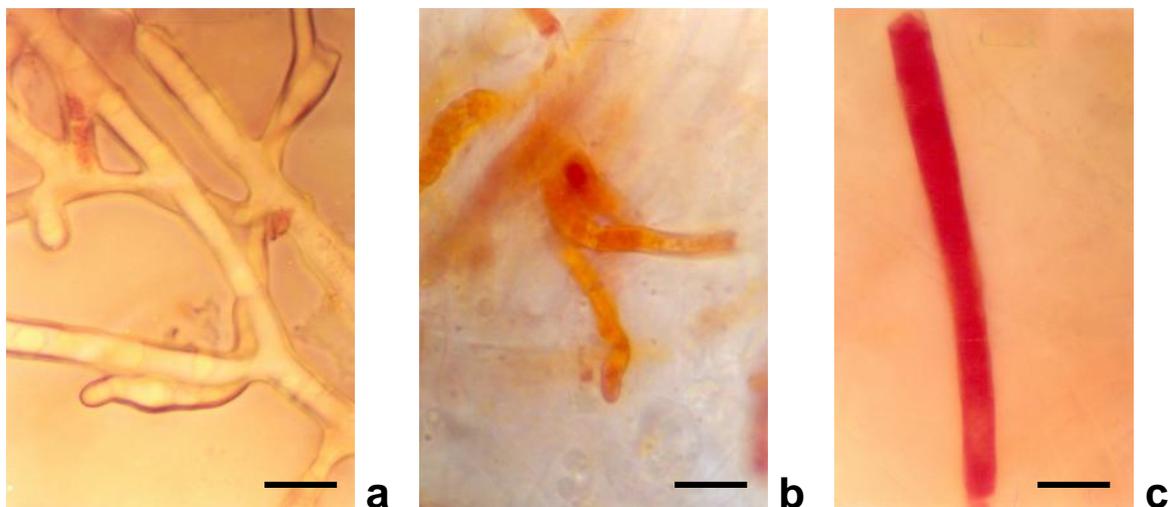
Kandungan pigmen pada berbagai produk RFR dapat terekstraksi alkohol 40% dan terukur intensitas warna berdasarkan absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 354 nm, 388 nm, dan 401 nm. Pengukuran serapan terhadap ketiga perlakuan contoh ditunjukkan dari nilai maksimumnya, dimana absorbansi dari senyawa tersebut sudah mendekati daerah tampak UV. Penginderaan ketiga panjang gelombang tersebut sesungguhnya hanya menunjukkan warna bening, tidak menunjukkan warna apapun. Mungkin hal ini disebabkan oleh penggunaan sinar tampak di bawah panjang gelombang 402 nm.



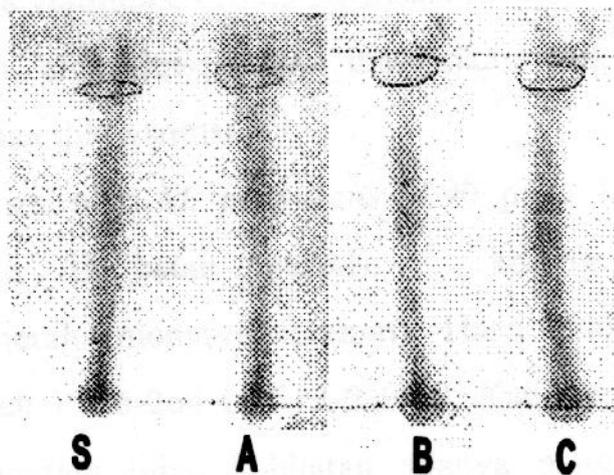
Gambar 3. Intensitas warna pada berbagai produk yang difermentasi oleh *M. purpureus*. A. produk tepung monascus (PTM-264); B. produk tepung monascus steril (PTM-244); C. produk monascus beras.



Gambar 4. Struktur kimia biosintesis pigmen dari *Monascus* sp (Sherperd, 1977).



Gambar 5. Morfologi *M. purpureus* 3090 dilihat dengan foto mikroskop fase-kontras (x 1000). A. Bagian morfologi menghasilkan pigmen kuning (garis = 1,5 µm); B. Bagian ascomata menghasilkan pigmen jingga (orange) (garis = 2,5 µm); dan C. Bagian ascomata dewasa menghasilkan pigmen merah (garis = 4 µm).



Gambar 6. TLC senyawa lovastatin. S, standar; A, PTM-264; B, PTM-244; dan C, PMB.



Gambar 7. A. produk monascus beras belum digiling, B. produk tepung monascus steril (PTM-244).

Hasil analisis serapan absorbansi spektrum terendah diperoleh dari contoh PTM-264 dibandingkan kedua perlakuan tersebut. Sedangkan hasil serapan spektrum rata-rata tertinggi adalah 0,3513-0,4050 yang diperoleh PTM-244. Sementara serapan spektrum yang dihasilkan produk monascus beras adalah 0,3443-0,3540. Pengaruh penggunaan ketiga panjang gelombang tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada berbagai contoh produk. Dilaporkan bahwa pigmen kuning memiliki serapan maksimum relatif rendah dibandingkan pigmen jingga dan merah yang dihasilkan dalam medium kultur

terendam maupun kultur padat, pigmen kuning menunjukkan serapan spektrum yang lebih tinggi (Lin dan Suen 1973; Carels dan Sherpherd; Wong *et al.*, 1981; Lin dan Lizuka 1982; dalam Youngsmith, *et al.*, 1993). Beberapa pigmen yang dihasilkan kapang *M. rubropunctatus* adalah pigmen kuning (monascin) dan pigmen jingga (rubropunctatin), sedangkan *M. purpureus* menghasilkan pigmen jingga (monascorubrin) dan pigmen kuning (monascin). Biosintesis pigmen ini dilihat dari struktur kimia untuk setiap warna akan berbeda (Broder *et al.*, 1980).

Biosintesis pigmen ditentukan juga oleh jenis medium (Susanti, 1998). Produksi pigmen *M. purpureus* akan dipengaruhi rasio C/N dalam medium (Lin, 1973; Wong 1981). Kandungan nitrogen nitrat dan nitrogen ammonia dapat meningkatkan produksi pigmen karena secara efektif mampu mendorong metabolisme ammonium nitrat (Hawker, 1950 dalam Sukandar, 2003). Perkembangbiakan seksual dan pembentukan konidia akan dipacu oleh kandungan nitrogen organik yang optimum. Karena secara kuantitatif jumlah pigmen yang dihasilkan signifikan dengan pembentukan konidia (Carels *et al.*, 1977). Perbedaan morfologi *M. purpureus* 3090 menunjukkan tingkat biosintesis pigmen pada perkembangbiakan seksual (Gambar 5.).

Pada Gambar 6. memperlihatkan reaksi produk dengan eluen ($\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH} = 5:1$) pada kromatografi lapisan tipis (TLC). Nilai Rf masing-masing produk, yaitu PTM 264, PTM 244, dan PMB adalah 0,84, Rf 0,83, dan Rf 0,83. Sedangkan nilai Rf standar lovastatin adalah (Rf 0,81).

Kandungan lovastatin paling tinggi diperoleh dari contoh produk kapang monascus (PTM-264) yang memiliki nilai Rf 0,84 lebih tinggi dibandingkan nilai standar lovastatin. Sedangkan contoh produk monascus beras (PMB) menghasilkan nilai Rf terendah (0,82). Perbedaan hasil produksi monascus dalam bentuk beras dan tepung disajikan pada Gambar 7.

KESIMPULAN

Kapang *M. purpureus* 3090 yang diisolasi dari produk tepung monascus (PTM-264) pada kondisi populasi mikroorganisme campuran (26×10^6 propagul/ml) masih menunjukkan daya viabilitas. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf terhadap PTM-244 menunjukkan efektifitas cukup tinggi untuk mematikan mikroorganisme, sehingga produk tersebut aman dikonsumsi.

Biosintesis pigmen oleh *M. purpureus* 3090 pada fase perkembangbiakan menghasilkan berbagai tingkatan pigmen: kuning (monascin), jingga (rubropunctatin), dan merah (monascorubramin). Hasil analisis intensitas serapan warna tertinggi diperoleh PTM-264 0,3513-0,4050. Kandungan pigmen dari ketiga perlakuan produk tidak

menunjukkan adanya pengaruh suhu pemanasan terhadap kestabilan pigmen. Produksi pigmen sangat dipengaruhi oleh komposisi dan pembentukan konidia, yang secara kualitatif menambah pigmen.

Nilai Rf 0,84 adalah kandungan lovaslatin tertinggi yang diperoleh dari contoh PTM-264. Sementara contoh PMB memiliki kandungan lovastatin terendah dengan nilai Rf 0,82. Namun demikian ketiga perlakuan di atas menunjukkan kandungan lovastatin lebih tinggi dibanding nilai Rf larutan standar lovastatin (0,81).

DAFTAR PUSTAKA

- Broder, C.U. and P.E. Kochler. 1980 Pigments by **Monascus purpureus** with regard quality and quantity. *Food Science* 576-569.
- Carels, M. and D. Sherperd. 1977. The effect of different nitrogen source on pigment production and sporulation of **Monascus** species in submerged, shaken culture. *Canadian Journal of Microbiology* 23: 1360-1372.
- Hasseltine, C.W. 1965. A millenium of fungi, food and fermentation. *Mycologia* 57: 149-197.
- Lin, C.F. 1973. Isolation and cultural condition of **Monascus** sp. for the production of pigment in a submerged culture. *Journal of Fermentation Technology* 51: 407-414.
- Moestofa, H.A. dan H.E. Krisnandi. 2002. *Dasar-dasar Khromatografi dengan Instrumentasi*. Bogor: Sekolah Menengah Analis Kimia.
- Palo, M.A., L.V. Adeva, and L.M. Maceda. 1960. A study on angkak and its production. *The Philippine Journal of Science*, 89 (1): 1-19.
- Parker, S.P. 1986. *Kamus Biologi*. New York: Mc Graw-Hill Book, Company.
- Steinkraus, H. 1983. *Indigenous Fermented Food* New York: Marcel Dekker.
- Sukandar. 2003. Singkong sebagai substrat yang potensial untuk produksi zat warna **Monascus**. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Proses Kimia V*. Jakarta: Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik UI.
- Susanti, M.T. 1998. *Optimasi Kondisi Operasi Proses Produksi Pigmen Angkak pada Fermentasi beras oleh Monascus purpureus*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Wong, H.C., Y.C. Lim, and P.E. Kochler. 1981. Regulation of growth and pigmentation of **Monascus purpureus** by carbon and nitrogen concentration, *Mycologia* 73: 649-654.
- Yongsmith, B., W. Tabloka, W. Yongmanitchai, and R. Bavavoda. 1993. Culture condition for yellow pigment formation by **Monascus** sp. KB10 grown on cassava medium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 9: 85-90.