

Produksi dan Ekstraksi Pigmen Anka *Monascus purpureus* pada Beras IR42

Production and Extraction of Anka *Monascus purpureus* Pigment on IR42 Rice

Endang Kusdiyantini

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jalan Prof. Soedarto, SH, Semarang, 50275
Corresponding Author/email: kusdiyantini@live.undip.ac.id

Abstract

Monascus, a filamentous fungus, is a producer of pigments that has long been employed as a natural food colorant, particularly in the case of *M. purpureus* and *M. ruber* species. Anka, derived from solid-state cultivation of *M. purpureus* on rice substrate, serves as a valuable resource. The objective of this study was to generate Anka from *Monascus purpureus*, which was isolated from commercial Anka in Semarang, and subsequently quantify the concentrations of red, orange, and yellow pigments. Anka was produced using IR42 rice, followed by a 30-day incubation period. Pigment extraction was conducted using methanol as the solvent, and the measurements were performed using a spectrophotometer at wavelengths of 500 nm for red pigments, 470 nm for orange pigments, and 390 nm for yellow pigments. The resulting Anka exhibited a red hue, indicative of the growth of *M. purpureus*. The highest pigment concentration was observed in the yellow pigment, registering at 1.121 CVU/g. This was followed by the red pigment at 1.049 CVU/g, while the lowest concentration was recorded in the orange pigment at 837 CVU/g.

Keywords: *Monascus purpureus*, Anka, Pigments

Abstrak

Monascus merupakan kapang filamentous penghasil pigmen yang telah lama digunakan sebagai pewarna alami pangan, terutama *M. purpureus* dan *M. ruber*. Anka merupakan kultur padat dari *M. purpureus* dengan media beras. Tujuan penelitian ini untuk membuat Anka dari *Monascus purpureus* hasil isolasi dari Anka komersial di Semarang dan mengukur konsentrasi pigmen merah, oranye dan kuning. Beras IR42 digunakan untuk pembuatan Anka yang diinkubasi selama 30 hari. Ekstraksi pigmen menggunakan solven metanol dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm untuk pigmen merah, 470 nm untuk oranye dan 390 nm untuk pigmen kuning. Anka yang dihasilkan berwarna merah yang menunjukkan adanya pertumbuhan *M. purpureus*. Konsentrasi pigmen tertinggi diperoleh dari pigmen kuning sebesar 1.121 CVU/g, sedangkan pigmen merah sebesar 1.049 CVU/g dan yang paling rendah adalah pigmen oranye sebesar 837 CVU/g.

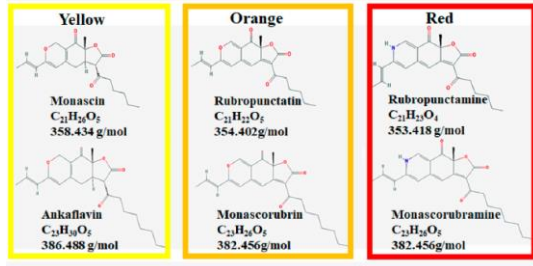
Kata Kunci: *Monascus purpureus*, Anka, Pigmen

PENDAHULUAN

Monascus purpureus adalah fungi/kapang yang tergolong phylum Eucomycota, subphylum Ascomycotina, klas Ascomycetes, Ordo Eurotiales dan famili Monascaceae. Genus *Monascus* meliputi sembilan species, yaitu: *M. pilosus*, *M. purpureus*, *M. ruber*, *M. floridanus*, *M. argentinensis*, *M. eremophilus*, *M. lunisporas*, *M. pallens* dan *M. sanguineus*. Fungi dapat menghasilkan metabolit sekunder yaitu pigmen yang mempunyai aktifitas bioaktif yaitu sebagai antioksidan. Pigmen yang dihasilkan oleh *Monascus* sp. ada 6 jenis, yaitu (1) merah (rubropunctamin, $C_{21}H_{26}NO_4$, dan monascrubramin, $C_{23}H_{27}NO_4$); (2) oranye (rubropunctatin, $C_{21}H_{22}O_5$ dan monascorubrin,

$C_{23}H_{26}O_5$) dan (3) pigmen kuning (monascin, $C_{21}H_{26}O_5$ dan ankaflavin, $C_{23}H_{30}O_5$) (Kim dan Ku, 2018) (Gambar 1). Selain pigmen, *Monascus* mengandung senyawa bioaktif lain seperti monacolin K (lovastatin) sebagai penghambat kolesterol. Meskipun mengandung citrinin yang toksik, akan tetapi pigmen *Monascus* banyak diaplikasikan pada industri pangan untuk memberi warna alami pada berbagai produk pangan. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk meningkatkan senyawa bioaktif dan menurunkan senyawa toksiknya (Saithong *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2015). Kapang ini dapat dikulturkan dalam media cair yang pertumbuhan dan produksi pigmennya dipengaruhi oleh jenis substrat, sumber

karbon, nitrogen, pH, suhu, dan agitasi (Haque *et al.*, 2016; Silbir and Goksungur, 2019). Pada media padat, *M. purpureus* sering digunakan untuk fermentasi beras untuk menghasilkan beras merah (anka) dan dikenal sebagai Red Yeast Rice (Fukami *et al.*, 2021).



Gambar 1. Struktur Kimia Pigmen Monascus (Kim dan Ku, 2018)

Red Yeast Rice banyak dijumpai di negara China, Jepang, Korea dan Thailand (Patel, 2016). Di Indonesia Red Yeast Rice dikenal sebagai Anka (Angkak) yang banyak digunakan masyarakat untuk obat demam berdarah yang diyakini dapat meningkatkan trombosit. Monascus juga dapat tumbuh pada media selain beras seperti tongkol jagung, biji durian, singkong, cereal dll. (AEM and MAA, 2017; Srianta *et al.*, 2016). Pigmen Monascus juga diketahui mempunyai aktivitas antioksidan dan antibakteri (Gökmen *et al.*, 2021). Penelitian ini bertujuan membuat Anka dari *Monascus purpureus* hasil isolasi dari Anka komersial di Semarang dan mengukur konsentrasi pigmen merah, oranye dan kuning

BAHAN DAN METODE

Bahan: Mikroorganisme.

Mikroorganisme yang digunakan adalah kapang *Monascus purpureus* berasal dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Kapang ini disimpan di media PDA (Potato Dextrose Agar) dengan suhu dingin 4°C sebelum digunakan penelitian.

Pembuatan Inokulum

M. purpureus ditumbuhkan pada media PDA miring yang steril selama 14 hari. Masukkan Larutan garam fisiologis dimasukkan ke dalam kapang pada media miring ini, kemudian digojok dengan pelan-pelan agar spora terlepas dari miseliumnya. Spora sebanyak 2 mL diinokulasikan ke dalam 50 ml media PDB pH 5,5 untuk diinkubasi

selama 14 hari, selanjutnya digunakan sebagai inokulum pada substrat padat/beras IR42.

Pembuatan Anka *Monascus purpureus*

Monascus purpureus dikulturkan pada media Potato Dextrose Broth (PDB) selama 14 hari. Beras dicuci bersih dan direndam selama 12 jam, ditiriskan, kemudian disterilisasi pada autoclave, temperature 121°C, tekanan 2 atmosfer selama 20 menit. Beras yang sudah steril didinginkan kemudian diinokulasi sebanyak 15% (v/b) dengan kultur cair *M. purpureus* dan diinkubasi selama 30 hari. Aquades steril sebanyak 2 ml ditambahkan untuk menjaga kelembaban kultur. Pada akhir inkubasi, kultur *M. purpureus* padat dipanen, dikeringkan pada oven dengan suhu 40°C selama 48 jam.

Ekstraksi Pigmen *Monascus purpureus*

Kultur padat (anka) yang sudah dipanen kemudian digerus dengan mortal dan diayak menjadi bubuk kasar. Sebanyak 0.05 g Anka bubuk ditambah 10 ml methanol 95% dan dihomogenasi pada vortex sampai tercampur dengan baik. Ekstraksi pigmen dilakukan pada orbital shaker dengan kecepatan 50 rpm selama 48 jam dengan solven metanol.

Produksi Anka dan Ekstraksi Pigmen

Proses pembuatan Anka dari *Monascus purpureus* pada media beras menunjukkan bahwa tahap awal meremajakan dulu dari kultur stok (Gambar 2a). Peremajaan perlu dilakukan agar supaya mendapatkan kultur yang muda, sehingga mudah untuk ditumbuhkan.



Gambar 2. Alur produksi Anka dari *Monascus purpureus*

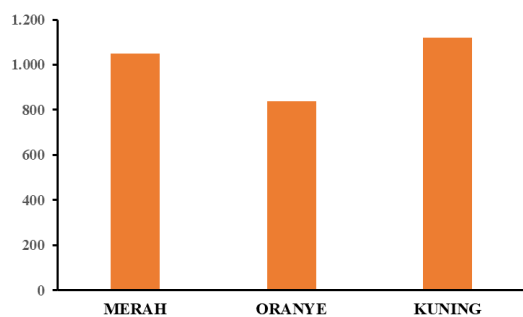
Kultur cair dengan inkubasi 14 hari (Gambar 2b) digunakan sebagai inokulum pada media beras yang telah disterilkan (Gambar 2c).

Setelah inkubasi 30 hari pada media beras, maka Anka telah jadi (Gambar 2d), beras sudah tampak merah karena ditumbuhi Monascus dan kemudian digerus untuk menjadi bubuk (granula)

agar mudah diekstraksi. Ekstrak pigmen dalam metanol (Gambar 2f) tampak cairan merah yang mengindikasikan bahwa pigmen telah diekstraksi. Ekstraksi pigmen dari kultur merupakan hal penting untuk mendapatkan hasil yang maksimal. Menurut Daud *et al.* (2020) variasi solven berpengaruh terhadap ekstraksi pigmen *Monascus*. Pilihan solven menjadi dasar mendapatkan hasil ekstraksi yang maksimal. Metanol merupakan salah satu solven yang digunakan untuk ekstraksi pigmen. Menurut Poddar *et al.* (2021) metanol merupakan solven yang baik untuk ekstraksi pigmen intraseluler, sedangkan solven etanol, dietil eter, kloroform, heksan, aseton tidak mendapatkan ekstrak warna yang maksimal. Campuran kloroform dan etanol dengan perbandingan 3:1 menghasilkan spot yang baik untuk pigmen di Kromatografi Lapis Tipis.

Konsentrasi Pigmen Anka *Monascus purpureus*

Pigmen *Monascus* digolongkan kedalam intraseluler yang terdapat dalam sel hifanya dan ekstraseluler yang dikeluarkan kedalam medianya. Pada kultur cair pigmen hifa dipisahkan dulu dengan sentrifugasi untuk mendapatkan pigmen intraseluler, sedangkan pada kultur padat pigmen hifa sudah tercampur dengan medianya sehingga langsung diekstraksi. Li *et al.* (2019) menyatakan bahwa pemisahan pigmen *Monascus* sangat sulit karena terlalu kompleksnya senyawa yang dikandung genus ini. Hasil pengukuran konsentrasi pigmen Anka pada penelitian ini menunjukkan bahwa pigmen merah sebesar 1.049 CVU/g, oranye sebesar 837 CVU/g dan konsentrasi tertinggi terdapat pada pigmen kuning sebesar 1.121 CVU/g (Gambar 3). Hasil ini juga ditunjukkan oleh penelitian Park *et al.* (2019) yaitu konsentrasi tertinggi adalah pigmen kuning.



Gambar 3. Hasil pengukuran pigmen merah, oranye dan kuning Anka (CVU/g)

Berbagai faktor akan mempengaruhi produksi pigmen *Monascus* antara lain pH, nitrogen, sumber karbon. Menurut Shi *et al.* (2015),

pH rendah menyebabkan akumulasi pigmen kuning dan oranye, sedangkan pH yang relatif tinggi mendukung terbentuknya pigmen merah. Kondisi media dengan konsentrasi glukosa yang tinggi akan mempengaruhi pembentukan pigmen kuning Huang *et al.* (2017). Peningkatan pigmen kuning pada *Monascus* telah dilakukan oleh Liu *et al.* (2020) dengan mengaktifkan jalur cAMP.

KESIMPULAN

Anka *Monascus purpureus* telah berhasil dibuat selama inkubasi 30 hari pada media beras dan konsentrasi pigmen merah sebesar 1.049 CVU/g, oranye sebesar 837 CVU/g dan konsentrasi tertinggi terdapat pada pigmen kuning sebesar 1.121 CVU/g.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dari sumber dana selain APBN Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro tahun 2021, no 2178/UN7.5.8.2/PP/2021

DAFTAR PUSTAKA

- AEM G. and W. MAA. 2017. Red yeast as a powerful stable biopigment producer under various growth conditions. *Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)* 7(4): 331–345. DOI 10.5943/cream/7/4/10
- Daud NFS, F.M. Said and NMH Yasin. 2020. Evaluation of Bio-red Pigment Extraction from *Monascus purpureus* FTC5357. Energy Security and Chemical Engineering Congress. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 736-022084. DOI 10.1088/1757-899X/736/2/022084
- Fukami H., Y. Higa, T. Hisano, K. Asano, T. Hirata, and S. Nishibe. 2021. A Review of Red Yeast Rice, a Traditional Fermented Food in Japan and East Asia: Its Characteristic Ingredients and Application in the Maintenance and Improvement of Health in Lipid Metabolism and the Circulatory System. *Molecules*, 26, 1619.
- Gökmen G.G., M.S. Silbir, Y. Göksungur and D. Kislak. 2021. Antimicrobial activity of red pigments derived from *Monascus purpureus*: A comparison to industrial red pigments. *JSFA Report*.
- Haque M.A., V. Kachrimanidou, A. Koutinas, C.S.K. Lin. 2016. Valorization of bakery waste for biocolorant and enzyme production

- by *Monascus purpureus*. *Journal of Biotechnology*, 231, 55–64.
- Huang, Tao, Meihua Wang, Kan Shi, Gong Chen, Xiaofei Tian and Zhenqiang Wu. 2017. Metabolism and Secretion of Yellow Pigment Under High Glucose Stress with *Monascus ruber*. *AMB Express*. 7:79.
- Kim D. and S. Ku. 2018. Beneficial Effects of *Monascus* sp. KCCM 10093. Pigments and Derivatives: A Mini Review. *Molecules* 23, 98.
- Li T., X. Liu and L. Yan. 2019. Separation and purification of *Monascus* pigments from red yeast rice. *Agricultural Biotechnology*, vol 8 no 2: 177-184.
- Liu J., Y. Du, H. Ma, X. Pei and M. Li. 2020. Enhancement of *Monascus* yellow pigments production by activating the cAMP signalling pathway in *Monascus purpureus* HJ11. *Microbial Cell Factories*, 19:224.
- Park G.H., J.W. Park, S.Y. Choi, C.Y. Hong, J.H. Seo, T.S. Kang, J. Lee and H.S. Jeong. 2019. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 2019; 48(12): 1391-1396.
- Patel, S. (2016). Functional food red yeast rice (RYR) for metabolic syndrome amelioration: a review on pros and cons. *World Journal of Microbiology Biotechnology* 32 (5), 87. doi: 10.1007/s11274-016-2035-2
- Poddar K., B. Padhan, D. Sarkar and A. Sarkar. 2021. Purification and optimization of pink pigment produced by newly isolated bacterial strain *Enterobacter* sp. PWN1. *SN Applied Sciences* 3:105 | <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04146-x>
- Saithong P., W.T. Chitisankul and S. Nitipan. 2019. Comparative study of red yeast rice with high monacolin K, low citrinin concentration and pigments in white rice and brown rice. *Czech Journal of Food Sciences*, 37 (1): 75–80. <https://doi.org/10.17221/474/2017-CJFS>.
- Shi, Kan, Da Song, Gong Chen, Marco Pistolozzi, Zhenqiang Wu and Lei Quan. 2015. Controlling Composition and Color Characteristics of *Monascus* Pigments by pH and Nitrogen Sources in Submerged Fermentation. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 20(20): 1-10.
- 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* vol 8, 161.
- Srianta I., E. Zubaidah, T. Estiasih, M. Yamada and 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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2016.05.011>.
- Zhou Z., H. Guo and C. Xie. 2015. Effects of Culture Conditions on Production of Red Pigment and Citrinin by Fermentation of *Monascus Ruber*. *Chemical Engineering Transactions*, vol 46. DOI: 10.3303/CET1546228.