

Karakterisasi Pigmen dan Kadar Lovastatin Beberapa Isolat *Monascus purpureus*

Pigment characterization and lovastatin content of *Monascus purpureus* isolates

ERNAWATI KASIM*, SRI ASTUTI, NOVIK NURHIDAYAT

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16002.

Diterima: 4 April 2005. Disetujui: 4 Juli 2005.

ABSTRACT

Research on characterization of pigment and lovastatin content of *M. purpureus* had been done. The aim of the research was to select 19 isolates of *M. purpureus* which produced the highest lovastatin content, and whether there was any correlation between pigment content and the lovastatin content. The isolates were grown on slant agar of bean sprout extract agar for 14 days. The spores suspension was inoculated to sterile cooked rice IR 42, then incubated for 14 days at 27-32°C. The fermented rice called "angkak", dried in oven at 40-45°C for two weeks. The dried "angkak" was powdered to measure the content of the pigment and lovastatin. By using spectrophotometer the content of the yellow pigment and the red pigment at 390 nm and 500 nm wavelength respectively, could be detected. The content of lovastatin could be measured by using HPLC. The result showed that all the tested isolates could produce lovastatin compound, the yellow and the red pigment. The highest lovastatin content was 0.92% which produced by JmbA isolate. There was no correlation between the pigment and the lovastatin content.

© 2005 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: *Monascus purpureus*, pigment, lovastatin.

PENDAHULUAN

Penyakit jantung dan stroke menempati urutan pertama penyebab kematian baik di negara-negara maju maupun negara berkembang. Salah satu faktor resiko langsung serangan jantung adalah kadar kolesterol darah yang tidak normal (Soeharto, 2004). Kolesterol, ester kolesterol serta trigliserida dalam arteri berasosiasi dengan sejumlah besar kolagen dan glukosaminoglikan serta sel-sel otot polos dalam dinding pembuluh darah membentuk plak yang menonjol ke lumen. Keadaan ini dinamakan aterosklerosis. Plak yang menonjol ke dalam lumen secara nyata akan menyebabkan penyempitan arteri (Spector, 1993). Penyempitan arteri akan menyebabkan terhambatnya aliran darah dalam arteri. Jika hambatan ini terjadi dalam arteri yang menuju ke jantung akan menyebabkan penyakit jantung koroner, dan jika terjadi pada arteri yang menuju ke otak akan menyebabkan stroke (Soeharto, 2004).

Kapang jenis *Monascus purpureus* tidak banyak ditemukan di alam, sebagian besar dapat ditemukan pada produk makanan. Hawksworth dan Pitt (1983) menyatakan bahwa jenis kapang ini penting dalam produksi makanan fermentasi di Asia, terutama pada angkak. Angkak adalah produk fermentasi dari beras oleh kapang *M. purpureus* yang diproduksi dengan sistem fermentasi media padat. Angkak ini merupakan produk komersial di negara Cina bagian Selatan, Filipina dan Indonesia. Angkak biasanya digunakan sebagai pengawet dan pewarna makanan

seperti daging, ikan dan keju. Di samping itu bahan ini digunakan juga untuk pembuatan minuman anggur beras dan minuman lainnya (Steinkraus, 1983; Ma *et al.*, 2000). Heber (1999) mengatakan bahwa *M. purpureus* pada beras angkak memproduksi senyawa yang dapat menghambat sintesis kolesterol yang disebut lovastatin. Angkak mengandung beberapa bahan aktif, yang dominan adalah senyawa terpenoid yaitu mevinolin dan monakolin (inhibitor HMG-KoA reduktase), asam-asam lemak tidak jenuh dan bahan-bahan lain seperti protein, asam amino, fitosterol, isoflavin dan glikosida, serta berbagai pigmen (Blanc *et al.*, 1995 dalam Anon., 2004).

Menurut Suwanto (1985), terdapat enam komponen utama dari pigmen yang dihasilkan oleh *M. purpureus*. Keenam pigmen tersebut adalah rubropunktatin (merah), monaskorubrin (merah), monaskin (kuning), ankaflavin (kuning), rubropunktamin (ungu) dan monaskorubramin (ungu). Hasil penelitian Fardiaz *et al.* (1996) menyatakan bahwa pigmen yang dihasilkan oleh kapang *M. purpureus* tidak bersifat toksik serta tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh. Hiperkolesterolemia merupakan salah satu faktor primer yang menyebabkan aterosklerosis dan juga meningkatkan resiko terkena penyakit jantung koroner yang merupakan salah satu penyebab utama kematian di dunia saat ini. Oleh karena itu pencegahan maupun pengobatan terhadap hiperkolesterolemia merupakan objek penelitian yang cukup banyak dilakukan saat ini. Dengan kemajuan ilmu pengetahuan, sekarang angkak juga digunakan untuk keperluan medis. Angkak mengandung senyawa lovastatin yang dapat digunakan sebagai obat, karena senyawa tersebut dapat menurunkan kadar kolesterol darah (Palo, 1960; Hesseltine, 1965; Ma *et al.*, 2000). Heber, (1999) menyatakan bahwa lovastatin dapat

♥ Alamat korespondensi:
Jl.Ir. H.Juanda 18 Bogor 16002
Tel. +62-251-324006. Fax.: +62-251-325854
e-mail: noviknur@yahoo.com

menurunkan kadar kolesterol darah sebesar 11-32% dan kadar trigliserida sebesar 12-19%.

Studi yang dilakukan di UCLA dan dipublikasikan dalam *American Journal of Clinical Nutrition* menemukan bahwa pemberian 2400 mg angkak per hari pada manusia dapat menurunkan kolesterol, trigliserida dan kolesterol LDL sesudah 8 minggu. Para peneliti tidak menemukan adanya efek buruk pada uji fungsi hati dan ginjal yang dilakukan sesudah dan sebelum perlakuan (Anon., 2004). Penurunan kadar kolesterol merupakan pencegahan primer dan sekunder terhadap penyakit jantung dan komplikasi lain dari aterosklerosis. Lovastatin dikenal juga dengan nama monakolin K atau mevinolin. Senyawa ini dapat digunakan sebagai obat untuk menurunkan kadar kolesterol darah manusia, karena senyawa ini dapat menghambat sintesis kolesterol yakni menghambat aktivitas HMGCoA reduktase enzim penentu biosintesis kolesterol (Brown dan Goldstein 1991). Pemberian lovastatin secara rutin kepada penderita hiperkolesterolemia dapat menurunkan kadar kolesterol darah hingga 30% (Voet *et al.*, 1999)

Kandungan protein beras umumnya berkisar antara 6-10%. Beras juga mengandung vitamin B, fosfat, kalium, asam amino dan garam zinc. Kandungan senyawa-senyawa ini dapat mempengaruhi produksi pigmen (Linn., 1973). Khusus untuk asam amino, methionin merupakan asam amino esensial bagi biosintesis lovastatin, karena merupakan prekursor langsung (Stocking dan Williams 2003). Telah diisolasi, dikarakterisasi dan diidentifikasi 19 isolat *M. purpureus* yang dikoleksi dari beberapa lokasi di Indonesia. Karakter penting dari kapang jenis ini bahwa kapang tersebut dapat memproduksi senyawa lovastatin yang dapat menghambat sintesis kolesterol, pereduksi resiko aterosklerosis, jantung koroner dan stroke

Penelitian ini bertujuan untuk menyeleksi 19 isolat *M. purpureus* tersebut, yakni yang mampu menghasilkan kadar pigmen dan senyawa lovastatin tertinggi, di samping itu juga untuk mengetahui korelasi antara kadar pigmen tersebut dengan kandungan lovastatin.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 19 isolat *M. purpureus* yang disimpan pada Kultur Koleksi Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI, Bogor. Bahan lain yang digunakan adalah media ekstrak tauge agar, nasi dari beras putih IR 42, methanol, asetonitril, asam fosfat 0,1%, dan standard lovastatin.

Pembuatan inokulum/ starter. Isolat *M. purpureus* yang digunakan pada penelitian ini berjumlah 19 isolat. Setiap isolat ditumbuhkan pada agar miring ekstrak tauge agar dalam tabung reaksi. Kemudian biakan diinkubasi pada suhu 27-32°C selama 14 hari. Setelah 14 hari suspensi spora dibuat dengan cara memasukkan 2,5 mL aquades steril ke dalam setiap biakan dalam tabung reaksi. Permukaan biakan agar miring dikikis sehingga didapatkan suspensi spora. Nasi sebanyak 25 g dimasukkan ke setiap cawan petri lalu disterilisasi. Setelah nasi menjadi dingin, suspensi spora diinokulasikan, lalu diinkubasi selama 14 hari pada suhu 27-32°C. Nasi yang telah difermentasi dikeringkan dalam oven pada suhu 40-45°C, selama seminggu. Nasi yang sudah kering yang disebut angkak dihaluskan sampai berbentuk serbuk. Serbuk ini siap digunakan untuk inokulum sebagai starter.

Fermentasi nasi sebagai media padat. Setiap cawan petri diisi dengan 25 g nasi lalu disterilisasi. Setelah nasi dingin diinokulasi dengan 2 g inokulum untuk setiap cawan

petri, kemudian diinkubasi selama 14 hari pada suhu 27-32°C. Hasil fermentasi dikeringovenkan selama 7 hari dengan suhu 40-45°C, dan diblender sampai menjadi serbuk. Serbuk ini siap untuk diukur kadar pigmen dan kadar lovastatinnya.

Pengukuran pigmen. Untuk pengukuran pigmen dari angkak, ditimbang sebanyak 0,05 g serbuk angkak, kemudian diekstrak dengan 10 mL methanol dan dilakukan pengocokan selama 24 jam. Kemudian ekstrak disaring sehingga didapatkan filtrat. Dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 390 nm kadar pigmen kuning dapat diukur, dan pigmen merah diukur dengan panjang gelombang 500 nm.

Pengukuran lovastatin. Lovastatin dapat diukur dari serbuk angkak. Satu gram serbuk angkak diekstrak dengan 2 mL asetonitril dan 0,1 mL asam fosfat 0,1%, dari dibiarkan selama 30 menit, kemudian larutan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatannya diambil dan diinjeksikan pada kolom HPLC, maka kadar lovastatin dapat diukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran kadar pigmen

Gambar 1 memperlihatkan bahwa setiap isolat dari 19 isolat *M. purpureus* yang diuji dapat memproduksi pigmen kuning dan pigmen merah. Kandungan pigmen merah lebih tinggi dibandingkan dengan pigmen kuning, masing-masing absorbansinya berkisar antara 0,17-2,33 dan 0,40-2,58 (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar pigmen dan kadar lovastatin angkak.

Isolat	Kadar pigmen		Kadar lovastatin (n=2)
	Kuning rerata (A 390 ; n=2)	Merah rerata (A 500 ; n=2)	
Prba	0,6570	0,9525	0,12555
Stba	0,8745	0,7770	0,05130
Bnya	2,0040	2,0565	0,12420
Mlga	1,1160	0,7140	0,04785
Mllgb	0,9270	1,3485	0,50385
Srba	0,7710	1,2330	0,22235
Srbb	2,3310	2,5575	0,27040
Srbc	1,1310	1,0785	0,16400
Srbd	0,3150	0,4050	0,12730
Srbe	0,1740	2,4975	0,34185
Yga	0,9060	1,1145	0,10785
Ygbm	0,7530	0,9660	0,16350
Ygc	0,8985	1,2900	0,25560
Ygd	1,0320	1,8060	0,25720
Sla	0,9975	1,1475	0,09125
Slb	0,5445	0,5130	0,10880
Slc	1,1695	2,5860	0,14160
JmbA	0,9315	1,1070	0,92095
JmbB	0,4755	0,4350	0,08340

Keterangan: n = jumlah ulangan

Kadar pigmen yang dihasilkan berbeda-beda untuk setiap isolat, baik pigmen kuning ataupun pigmen merah. Kadar pigmen kuning absorbansi tertinggi dihasilkan oleh isolat Srbb yaitu sebanyak 2,33, sedangkan yang terendah dihasilkan oleh isolat Srbe yakni sebanyak 0,17. Kadar pigmen merah tertinggi dihasilkan oleh isolat Slc yakni absorbansinya sebanyak 2,58, yang terendah dihasilkan oleh isolat Srbd yakni absorbansinya sebesar 0,40. Jamur *M.purpureus* ini dapat menghasilkan pigmen merah yang

intensif sebagai produk metabolit jika dikultivasi pada beras pera yang telah dimasak (Sharpe, 2004). Di Cina produk ini sudah lama dimanfaatkan untuk membuat bir merah, sebagai pengawet makanan, serta untuk menjaga warna dan rasa ikan, keju dan daging (Steinkraus, 1983).

Gambar 1 memperlihatkan bahwa pigmen kuning yang dihasilkan oleh isolat Slc sebesar 2,59, Srbb 2,56 dan Bnya sebesar 2,06. isolat Slc merupakan isolat yang dapat menghasilkan pigmen kuning yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat-isolat lainnya. Isolat-isolat penghasil pigmen merah yang tinggi adalah Srbb sebesar 2,33 ; Bnya 2,00 ; dan Slc 1,17. Dari 19 isolat yang diuji, ternyata isolat-isolat Srbb, Slc dan Bnya merupakan isolat-isolat yang baik untuk penghasil pigmen kuning dan pigmen merah yang terbaik.

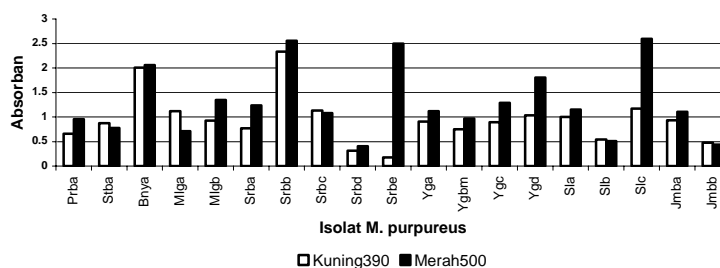
Kadar lovastatin

Dari hasil pengukuran diketahui bahwa kesembilan belas isolat yang diuji mampu menghasilkan lovastatin dengan kadar yang bervariasi, mulai dari 0,05% sampai 0,92% (Tabel 1). Kadar yang terendah dihasilkan oleh isolat Mlga, sedangkan yang tertinggi dihasilkan oleh isolat Jmba. Gambar 2. memperlihatkan bahwa kandungan lovastatin dari semua isolat yang diuji relatif cukup tinggi sebagaimana terukur dalam absorbansi yaitu sebesar 0,05-0,92%. Kandungan lovastatin ini jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan penelitian Kasim *et al.* (2006), yang menggunakan substrat padat beras merah, dengan kandungan lovastatinnya hanya berkisar antara 0,20-0,27%. Di sini terlihat bahwa substrat padat beras putih lebih baik dibandingkan dengan substrat padat beras merah untuk penghasil lovastatin.

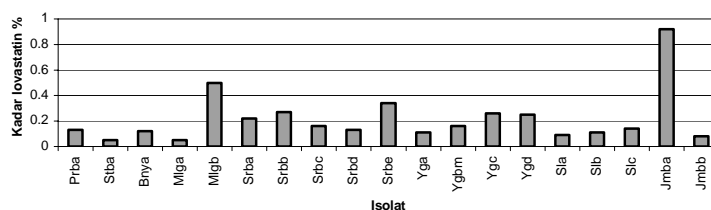
Beras pera atau beras putih mempunyai kandungan amilosa tinggi yakni sekitar 25-30% dan amilopektin rendah (Santoso, 1985). Kandungan tersebut merupakan substrat yang baik untuk pembuatan angkak dan untuk kandungan lovastatinnya. Sedangkan beras merah termasuk kategori beras ketan yang mempunyai kadar amilosa yang rendah yakni < 9%.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semua isolat yang diuji (19 isolat) *M. purpureus* dapat menghasilkan lovastatin dengan kadar yang bervariasi. Kadar lovastatin tertinggi dihasilkan oleh isolat Jmba yakni sebesar 0,92%, sedangkan yang terendah dihasilkan oleh isolat Mlga yaitu sebesar 0,05%. Di samping menghasilkan lovastatin semua isolat yang diuji juga dapat menghasilkan pigmen kuning dan pigmen merah dengan kadar yang berbeda. Pigmen kuning tertinggi dihasilkan oleh isolat Srbb dan yang terendah oleh isolat Srbe. Kadar pigmen merah tertinggi dihasilkan oleh isolat Slc dan yang terendah oleh isolat Srbd. Baik kandungan pigmen kuning ataupun pigmen merah tidak ada korelasinya dengan kandungan lovastatin. Pigmen merah umumnya lebih dominan daripada pigmen kuning. Isolat *M. purpureus* Jmba direkomendasikan menjadi kandidat untuk uji hayati fungsi lovastatin.



Gambar 1. Diagram kadar pigmen kuning dan pigmen merah dari 19 isolat *M. purpureus*.



Gambar 2. Kadar lovastatin dari 19 isolat *M. purpureus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2004. *Herbal Methods for High Cholesterol*. www.tips4betterlife.com/herbs/cure-highcholesterol.html [2 September 2004].
- Brown, M.S. and J.L. Goldstein, 1991. *Drugs Used in the Treatment of Hiperlipoproteinemia.. Pharmacological Basis of Therapeutics*. 8th ed. New York: McGraw-Hill Book.
- Fardiaz, S., D.B. Fauzi, dan F. Zakaria. 1996. Toksisitas dan imunogenisitas pigmen angkak yang diproduksi dari kapang *Monascus purpureus* pada substrat limbah cair tapioka. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan* 1 (2): 34-38.
- Hawksworth, D.L. and J.D. Pitt. 1983. A new taxonomy for *Monascus* species based on cultural and microscopical characters. *Australian Journal of Botany* 34: 51-61.
- Heber, D. 1999. Cholesterol lowering effects of a proprietary chinese red yeast rice dietary supplement. *American Journal of Clinical Nutrition* 69 (2): 231-236.
- Hesseltine, C.W. 1965. A millennium of fungi, food, and fermentation. *Mycologia* 57: 149-197.
- Kasim, E., N. Suharna, dan N. Nurhidayat. 2006. Kandungan pigmen dan lovastatin pada angkak beras merah kultivar bah butong dan Bp 1804 IF 9 yang difermentasi dengan *Monascus purpureus* Jmba. *Biodiversitas* 7 (1): 00-00 (in press).
- Linn, C.F. 1973. Isolation and Cultural Conditions of *Monascus* sp. for the Production of Pigment in a Submerged Culture. *Journal of Fermentation Technology* 51: 135-142.
- Ma, J., Y. Li, Q. Ye, J. Li, Y. Hua, D. Ju, D. Zhang, R. Cooper, and M. Chang. 2000. Constituents of red yeast rice, a traditional chinese food and medicine. *Journal of Agriculture, Food & Chemistry* 48: 5220-5225.
- Palo, M.A. 1960. A study on angkak and its production. *The Philippines Journal of Science* 89: 1-22.
- Santoso, G.S.B. 1985. Produksi pewarna alami angkak dengan media fermentasi beras sosoh. *Media Teknologi dan Pangan* 11 (2): 34-38.
- Sharpe, E. 2004. *Red Yeast Rice: Cholesterol – Busting Superfood or Just another Pharmaceutical?* www.delano.com/Reference/Article/Res-Yeast-Rice-Sharp.html [4 Mei 2004]
- Soeharto, I.2004. *Serangan Jantung dan Stroke: Hubungannya dengan Lemak dan Kolesterol*. Edisi Kedua. Jakarta. PT. Gramedia.
- Spector, W.G. 1993. *Pengantar Patologi Umum*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Steinkraus, K.H. 1983. *Handbook of Indigeneus Fermented Foods*. New York: University Press.
- Stocking, E.M., and R.M. Williams. 2003. Chemistry and biology of biosynthetic Diels-Alder reactions. *Angewandte Chemistry International* 42: 3078-3115.
- Suwanto, A. 1985. Produksi angkak sebagai zat pewarna makanan. *Media Teknologi dan Pangan* 11 (2): 8-14.
- Voet, D., J.G. Voet, and C.W. Pratt. 1999. *Fundamentals of Biochemistry*. Brisbane: John Wiley and Sons.