

ISOLASI ZAT WARNA BARU *Monascus purpureus* DARI HASIL FERMENTASI PADAT DENGAN BERAS SEBAGAI SUBSTRAT

Anna Yuliana, Fina Apriyani

Program Studi S-1 Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya

Email: anna_yuliana@stikes-bth.ac.id/ a_joely@yahoo.co.id

Received: 16 January 2018; Revised: March 2018; Accepted: March 2018; Available online: April 2018

ABSTRACT

Monascus purpureus is a mold capable of producing pigment as secondary metabolites. Pigments of *Monascus purpureus* isolated from rice fermented solid known as red yeast rice. This study was conducted to *Monascus purpureus* know the potential in generating new compounds of pigment produced by solid fermentation process with rice as a substrate. The results indicate insulation compounds and new compounds of pigment *Monascus purpureus*. Beginning with an analysis of Thin Layer Chromatography (TLC) using the mobile phase n-hexane and ethyl acetate (7:3) with a Rf value obtained was 0.71. Analysis with UV-Vis spectrophotometry against red yeast rice extract aims to determine the maximum wavelength. The results of the analysis of UV-Vis spectrophotometry obtained one peak an absorption at 0.255 with a wavelength of 486 nm which showed that the red pigment monascorubramin compounds in *Monascus purpureus*. Isolation of *Monascus purpureus* pigments by Preparative Thin Layer Chromatography (Preparative TLC) using the mobile phase n-hexane and ethyl acetate (7:3). Results isolation pigment *Monascus purpureus* form of a ribbon that can fluoresces at λ 365 nm UV light with a Rf value obtained was 0.73 were further identification of the molecular weights of compounds *Monascus purpureus* using HPLC instruments with detectors MS (Mass Spectrometer). The results of LC-MS analysis of a sample INACC-F01 showed a new compound which has a molecular weight of 357.41 and based on the literature that the same compounds with molecular weight is Monascopyridine C which is a derived compound from *Monascus* red pigment that is monascorubramin and rubropunctamin.

Keywords: *Monascus purpureus*, pigment, angkak, Preparative TLC, LC-MS.

ABSTRAK

Monascus purpureus merupakan kapang yang mampu menghasilkan zat warna sebagai metabolit sekundernya. Zat warna dari kapang *Monascus purpureus* diisolasi dari beras hasil fermentasi padat yang dikenal sebagai angkak. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi kapang *Monascus purpureus* dalam menghasilkan senyawa baru dari zat warna yang dihasilkan melalui proses fermentasi padat dengan beras sebagai substrat. Hasil isolasi menunjukkan adanya senyawa utama dan senyawa baru dari zat warna *Monascus purpureus*. Diawali dengan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan fase gerak n-heksan dan etil asetat (7:3) dengan nilai Rf yang diperoleh sebesar 0,71. Analisis dengan Spektrofotometri UV-Vis terhadap ekstrak angkak untuk mengetahui panjang gelombang maksimum. Hasil analisis Spektrofotometri UV-Vis diperoleh satu puncak dengan serapan 0,255 pada panjang gelombang 486 nm yang menunjukkan senyawa monascorubramin yaitu zat warna merah pada *Monascus purpureus*. Isolasi zat warna *Monascus purpureus* dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT Preparatif) menggunakan fase gerak n-heksan dan etil asetat (7:3). Hasil isolasi dengan KLT Preparatif berupa pita yang dapat berfluoresensi pada sinar UV λ 365 nm dengan nilai Rf yang diperoleh sebesar 0,73 yang selanjutnya dilakukan identifikasi bobot molekul dari masing-masing senyawa menggunakan instrumen HPLC dengan detektor MS (Mass Spectrometer). Hasil analisis LC-MS terhadap sampel INACC-F01 menunjukkan adanya zat warna baru yang memiliki bobot molekul sebesar 357,41 dan berdasarkan studi literatur bahwa senyawa yang mendekati bobot molekul tersebut adalah Monascopyridine C yang merupakan turunan senyawa dari zat warna merah *Monascus* yaitu monascorubramin dan rubropunctamin.

Kata kunci: *Monascus purpureus*, zat warna, angkak, KLT Preparatif, LC-MS.

PENDAHULUAN

Penggunaan zat warna telah menjadi bagian penting dari penampilan suatu produk. Zat warna banyak dibutuhkan dalam produksi makanan, obat-obatan, kosmetik maupun tekstil karena dapat membantu dalam produksi, serta dapat memberikan nilai tambah dan keuntungan. Pada dasarnya ada dua macam zat warna yaitu, zat warna alami dan zat warna sintetik (Fifendy dan Irdawati, 2011). Penggunaan zat warna sintetik telah diketahui memiliki efek toksik jika digunakan dalam pewarnaan bahan makanan maupun minuman (Sastrawidana dkk, 2015).

Banyak pewarna alami yang berasal dari sumber daya alam salah satunya dari tumbuhan yang telah banyak dimanfaatkan untuk pewarnaan pangan maupun non pangan. Namun, salah satu titik lemah terhadap penggunaan pewarna nabati tersebut adalah diperlukannya lahan yang luas serta perkembangan tumbuhan seringkali dipengaruhi oleh musim (Sastrawidana dkk, 2015). Maka dari itu, pewarna alami dari sumber daya alam dapat lebih diarahkan ke pewarna alami yang berasal dari mikroorganisme, salah satunya yaitu dari kapang *Monascus sp.*

Monascus sp. merupakan kapang yang biasa dimanfaatkan sebagai penghasil angkak yang dapat menghasilkan zat warna sebagai produk metabolit sekunder. Zat warna *Monascus* telah lama digunakan sebagai pewarna alami makanan, terutama di beberapa negara Asia seperti Cina Selatan (Yuliana dkk, 2016). Berbagai spesies kapang *Monascus sp.* penghasil angkak yaitu *Monascus purpureus*, *Monascus ruber*, *Monascus anka*, *Monascus pilosus*, *Monascus floridamus*, *Monascus pollens* dan *Monascus sanguineus*.

Angkak memiliki beberapa khasiat, diantaranya sebagai obat hiperkolesterolemia dan antihipertensi. Selain itu, zat warna merah yang dihasilkan oleh kapang *Monascus purpureus* juga memiliki berbagai aktivitas biologis, seperti antikanker dan antidiabetes (Shi dan Pan, 2010; Lee dkk, 2011 dalam Yuliana dkk, 2016) serta aktivitas antimikroba (Martinkova dkk, 1995; Kim dkk, 2006; Vedruscolo dkk, 2014 dalam Yuliana dkk, 2016).

Terdapat 6 jenis zat warna yang dihasilkan oleh kapang *Monascus purpureus* yaitu *monascorubramine* dan *rubropunctamine* sebagai zat warna merah, *monascoflavin* atau *monascin* dan *ankaflavin* sebagai zat warna kuning, *rubropunctatin* dan *monascorubrin* sebagai zat warna orange. Perkembangan terbaru menunjukkan bahwa ada 8 jenis zat warna yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus*, yaitu *rubropunctatin*, *monascorubrin*, *monascin*, *ankaflavin*, *rubropunctamine*, *monascorubramine*, *xanthomonasinA* dan *xanthomonasinB* (Wongjewboot dan Kongruang, 2011 dalam Indriati dan Andayani, 2012).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan kapang *Monascus purpureus* dalam menghasilkan senyawa baru dari zat warna yang dihasilkan melalui proses fermentasi padat dengan beras sebagai substrat.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Liquid Chromatography – Mass Spectrometer* (LC-MS), Spektrofotometer UV-Vis, autoklaf, oven, tabung reaksi, potter (alat penghancur miselium), Erlenmeyer, chamber, plat silika gel F₂₅₄, batang pengaduk, gelas kimia, ose bulat, kertas saring Whatman, pinset, pemanas api, neraca analitik, dan alat-alat laboratorium lain yang umum digunakan.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media PDA (*Potato Dextrose Agar*), Nutrient Broth, beras IR-64, Aquadest steril (*Aqua pro injection*), metanol, BaCl₂, H₂SO₄, n-heksan, dan etil asetat.

Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan berupa kapang *Monascus purpureus* yang diperoleh dari LIPI Serpong (INACC-F01), dan substrat yang digunakan berupa substrat padat yakni beras IR-64 yang diperoleh dari pedagang beras di Kota Tasikmalaya.

Metode

Penyiapan Peralatan Steril

Semua peralatan gelas yang akan digunakan pada penelitian ini disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 1 jam, sedangkan bahan-bahan yang akan digunakan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Pratiwi, 2008).

Pembuatan Media

Media PDA dibuat dengan cara melarutkan 19,5 gram serbuk PDA dalam 500 mL aquadest, dipanaskan sambil diaduk sampai larutan menjadi jernih. Kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Pratiwi, 2008).

Pembuatan Media Agar Miring

Medium PDA yang telah dibuat secara aseptis dimasukkan kurang lebih 5 mL ke dalam tabung reaksi dan dimiringkan dengan kemiringan sekitar 30°, kemudian dibiarkan sampai medium memadat (Asben dan Kasim, 2015 dalam Arianti, 2016).

Inokulasi Kapang *Monascus purpureus*

Inokulasi dilakukan dengan cara pengambilan sampel kapang *Monascus purpureus* secara aseptis menggunakan ose bulat, kemudian ditumbuhkan pada media agar miring PDA, selanjutnya diinkubasi pada suhu 25 – 32°C selama 7 – 14 hari (Priatni dkk, 2014).

Pembuatan Suspensi *Monascus purpureus*

Biakan kapang *Monascus purpureus* yang telah diinkubasi selama 7 – 14 hari secara aseptis dipindahkan ke dalam potter menggunakan ose bulat, kemudian ditambahkan aquadest steril sebanyak 10 mL dan dibuat suspensi dengan cara diaduk menggunakan potter sampai homogen (Kang dkk, 2013 dalam Arianti, 2016). Konsentrasi suspensi *Monascus purpureus* diatur dengan membandingkan kekeruhan (turbiditas) suspensi dengan larutan standar McFarland. Standar turbiditas atau standar McFarland disiapkan dengan mencampurkan 0,5 mL larutan barium klorida 1% dengan 9,5 mL asam sulfat 1% (Pollack dkk, 2016).

Penyiapan Substrat Padat

Substrat yang digunakan pada penelitian ini yaitu beras IR-64. Beras dibersihkan terlebih dahulu kemudian dimasukkan sebanyak 100 gram ke dalam Erlenmeyer 250 mL dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Pratiwi, 2008).

Fermentasi Menggunakan Media Beras IR-64 Sebagai Substrat

Pembuatan angkak diawali dengan cara substrat beras IR-64 yang telah disterilkan diinokulasi dengan suspensi *Monascus purpureus* sebanyak 3 mL, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 25 – 30°C selama 14 hari. Setiap dua hari sekali diberikan *Nutrien broth* pada beras yang difermentasi tersebut (Priatni dkk, 2014).

Ekstraksi Zat Warna

Angkak dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 30 menit, kemudian digerus hingga menjadi serbuk halus. Serbuk halus yang telah dikeringkan diekstraksi dengan metanol (Feng dkk, 2012). Campuran serbuk angkak dan metanol diletakkan di atas *vortex* kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Filtrat disaring menggunakan kertas saring Whatman kemudian dipekatkan dengan menggunakan *waterbath* (Srianta, 2016).

Analisis Spektrofotometri UV-Vis

Ekstrak angkak dianalisis absorbansi dan panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 200 – 800 nm (Yulia, 2009).

Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Pengujian kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan pada lempeng silika gel F₂₅₄ sebagai fase diam, dan sebagai fase gerak yang digunakan n-heksan dan etil asetat (7:3). Ekstrak ditotolkan pada fase diam kemudian dielusi oleh fase gerak, senyawa yang terelusi diamati secara visual dan di bawah sinar UV pada λ 254 nm dan λ 365 nm (Hsu dkk, 2011).

Analisis Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

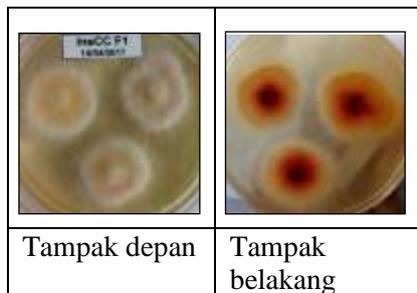
Pengujian kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dilakukan pada lempeng silika gel F₂₅₄ sebagai fase diam, dengan fase gerak n-heksan dan etil asetat (7:3). Ekstrak angkak ditotolkan pada lempeng KLTP secara horizontal sampai membentuk pita, kemudian dielusi dan diamati secara visual dan di bawah sinar UV pada λ 254 nm dan λ 365 nm (Hsu dkk, 2011).

Analisis Liquid Chromatography – Mass Spectrometer (LC-MS)

Fraksi hasil KLTP diidentifikasi menggunakan Liquid Chromatograph – Mass Spectrum (LC-MS) dengan fase gerak metanol dan asam format. Kolom yang digunakan adalah Phenomenex 5 μ C18 (150 mm x 1 mm). Sampel yang diinjeksikan sebanyak 2 μ L dan dialirkan pada laju alir 0,1mL/menit dengan elusi isokratik (Srianta dkk., 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan yaitu kapang *Monascus purpureus* INACC-F01 dan beras IR-64 sebagai substrat padat pada proses fermentasi. Isolat murni kapang *Monascus purpureus* diperoleh dari LIPI Serpong. Karakteristik dari isolat murni *Monascus purpureus* menunjukkan miselium yang berbentuk bulat menyerupai bunga, serta hifa berwarna putih dan orange. Isolat murni kapang *Monascus purpureus* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Isolat murni *Monascus purpureus* INACC-F01

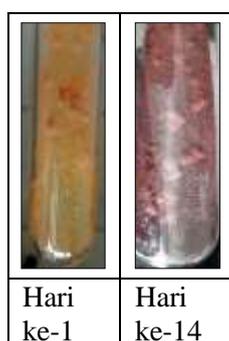
Inokulasi Kapang *Monascus purpureus*

Isolat murni kapang *Monascus purpureus* diinokulasi secara aseptis pada medium agar miring Potato Dextrose Agar (PDA). Pemilihan PDA sebagai media pertumbuhan *Monascus purpureus* dikarenakan PDA merupakan media yang umum digunakan untuk pertumbuhan jamur termasuk salah satunya *Monascus purpureus*, serta merupakan media yang selektif untuk pertumbuhan jamur atau kapang. Komposisi media PDA terdiri atas ekstrak kentang sebagai sumber karbon atau sumber makanan bagi biakan, dextrose sebagai sumber nitrogen yakni sebagai penambah nutrisi bagi biakan, serta agar sebagai tempat/media yang baik bagi pertumbuhan kapang/jamur, dikarenakan kandungan air yang terdapat dalam agar cukup untuk pertumbuhan kapang/jamur. Pemiakan kapang *Monascus purpureus* dilakukan pada temperaturruangan yakni pada temperatur 25 – 32°C selama 14 hari. Perkembangan morfologi *Monascus purpureus* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Perkembangan morfologi kapang *Monascus purpureus*

Usia (Hari)	Perkembangan Kapang	Morfologi
1	Tumbuh titik-titik putih	
2	Tumbuh hifa berwarna orange	
3 – 4	Hifa berwarna merah	
5 – 6	Warna merah menyebar	
7 – 9	Warna merah semakin banyak dan tersebar merata	
10	Terbentuk miselium berwarna orange	
11	Miselium mengkerut dan berwarna merah	
12 – 14	Miselium mengkerut dan berwarna merah tua	

Hasil pembiakan kapang *Monascus purpureus* selama 14 hari dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pembiakan *Monascus purpureus* pada medium PDA

Pembuatan Suspensi *Monascus purpureus*

Pembuatan suspensi *Monascus purpureus* bertujuan untuk memisahkan kapang *Monascus purpureus* dari medium PDA, supaya pertumbuhan kapang pada medium fermentasi (substrat beras) menjadi lebih merata, sehingga kecepatan pertumbuhan kapang meningkat. Biakan kapang *Monascus purpureus* yang telah berusia 14 hari ditambahkan aquadest steril sebanyak 10 mL dan dibuat suspensi dengan cara diaduk menggunakan potter sampai homogen. Pengadukan dengan potter bertujuan untuk menghancurkan miselium *Monascus purpureus* menjadi serabut-serabut hifa, sehingga ketika diinokulasi pada medium beras, hifa menjadi lebih tersebar dan penetrasi hifa ke dalam substrat meningkat.

Suspensi *Monascus purpureus* ditentukan kekeruhannya dengan larutan standar McFarland, sehingga jumlah kapang sesuai dengan kisaran yang dipersyaratkan. Standar McFarland merupakan campuran $BaCl_2$ dengan H_2SO_4 yang membentuk barium sulfat yang tersuspensi, sehingga menyebabkan kekeruhan. Kekeruhan suspensi dapat diamati secara visual.

Fermentasi Menggunakan Media Beras IR-64 Sebagai Substrat

Pembuatan angkak dilakukan dengan menggunakan medium padat beras IR-64 yang telah disterilisasi, kemudian ditambahkan suspensi *Monascus purpureus* ke dalam substrat. Kapang *Monascus purpureus* dapat tumbuh baik pada suhu 25 – 30°C (Hudik, 2012 dalam Feng dkk, 2012), maka dari itu proses fermentasi dilakukan pada suhu tersebut. Pada proses fermentasi perlu ditambahkan *nutrient broth* untuk memberikan nutrisi tambahan pada kapang dan untuk menjaga kelembaban supaya beras yang sedang difermentasi tidak terlalu kering. Dilakukan juga pengocokan untuk meratakan warna yang terbentuk, dan untuk meratakan pertumbuhan kapang *Monascus purpureus* pada substrat.

Pertumbuhan kapang pada hari ke-1 sampai hari ke-3 fermentasi tidak menunjukkan perubahan adanya warna yang terbentuk pada substrat, kondisi ini termasuk ke dalam fase adaptasi atau fase lag. Pembentukan warna mulai terlihat pada hari ke-4 yang ditunjukkan dengan adanya pembentukan warna merah yang tidak merata pada butir beras. Pada hari ke-7 warna merah yang terbentuk mulai tersebar merata pada seluruh substrat beras, kondisi ini diperkirakan sudah memasuki fase stasioner, yaitu fase ketika nutrisi yang terkandung dalam substrat mulai berkurang dan kapang *Monascus purpureus* mulai mensekresikan senyawa metabolit sekundernya. Pembentukan warna merah tersebut terus bertambah sampai hari ke-14 fermentasi. Warna merah yang terbentuk pada hari ke-14 fermentasi menjadi lebih pekat dan tersebar merata pada seluruh substrat. Hasil fermentasi beras IR-64 oleh kapang *Monascus purpureus* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil fermentasi beras IR-64 oleh kapang *Monascus purpureus*

Ekstraksi Zat Warna

Beras hasil fermentasi atau yang disebut dengan angkak, dikeringkan kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk untuk memperkecil ukuran partikel, sehingga luas permukaan semakin besar dan proses pelarutan akan semakin cepat.

Ekstraksi dalam hal ini bertujuan untuk melepaskan dan/atau memisahkan metabolit sekunder dari kapang *Monascus purpureus* berupa zat warna. Menurut Feng dkk (2012), zat warna *Monascus* sukar larut dalam air, akan tetapi dapat dengan mudah larut dalam pelarut organik, salah satunya yaitu metanol dikarenakan senyawa-senyawa dari *Monascus* bersifat polar. Maka dari itu, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi zat warna *Monascus purpureus* menggunakan pelarut metanol. Campuran serbuk angkak dan metanol diletakkan di atas vortex yang bertujuan untuk menghomogenkan campuran dan memaksimalkan pengeluaran metabolit sekunder dari *Monascus purpureus*. Kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan campuran tersebut, sehingga diperoleh filtrat (cairan) dan sentrat (endapan). Untuk memisahkan filtrat dari sentrat digunakan kertas saring Whatman no.1, dikarenakan kertas saring ini memiliki ukuran pori-pori yang sangat kecil, maka filtrat yang dihasilkan pun akan lebih jernih.

Ekstrak hasil sentrifugasi dipekatan hingga diperoleh ekstrak kental. Proses pemekatan ekstrak dilakukan dengan cara penguapan menggunakan *waterbath* pada suhu 60°C. Penguapan tersebut dilakukan pada kisaran titik didih metanol.

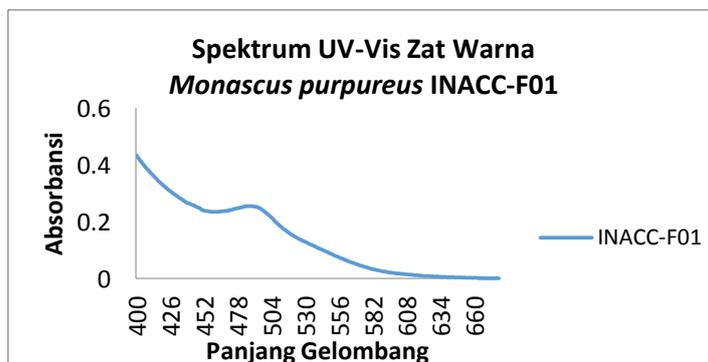
Analisis Spektrofotometri UV-Vis

Analisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis terhadap ekstrak angkak bertujuan untuk menentukan intensitas warna dari masing-masing senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Hasil pengukuran spektrofotometri UV-Vis pada angkak hasil fermentasi padat dengan beras IR-64 sebagai substrat menunjukkan adanya beberapa puncak panjang gelombang yang teridentifikasi oleh alat spektrofotometer pada rentang panjang gelombang 200 – 800 nm, hal ini disebabkan karena komponen senyawa pada ekstrak angkak hasil fermentasi padat begitu kompleks. Berdasarkan literatur, pada panjang gelombang 364 nm dan 365 nm menunjukkan zat warna kuning yaitu monascin dan ankaflavin, pada panjang gelombang 375 nm dan 400 nm menunjukkan zat warna orange yaitu monascorubrin dan rubropunctatin, serta pada panjang gelombang 480 nm dan 500 nm menunjukkan zat warna merah yaitu monascorubramin dan rubropunctamin.

Hasil analisis menunjukkan pada rentang panjang gelombang 200 – 400 nm diperoleh satu puncak dengan absorbansi 2,183 pada panjang gelombang 296 nm. Namun, serapan pada puncak ini diperkirakan bukan zat warna *Monascus* melainkan senyawa metabolit sekunder lain dari

Monascus purpureus yaitu sitrinin atau lovastatin. Pada panjang gelombang 400 – 800 nm terdapat satu puncak yang memiliki absorbansi 0,255 dengan panjang gelombang maksimum sebesar 486 nm.

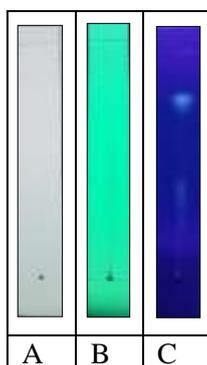
Berdasarkan studi literatur, panjang gelombang yang diperoleh tersebut termasuk ke dalam rentang panjang gelombang zat warna merah yaitu pada rentang 480 – 500 nm yakni monascorubramin. Spektrum hasil analisis ekstrak pada panjang gelombang 400 – 800 nm dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektrum hasil analisis ekstrak pada panjang gelombang 400 – 800 nm

Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Pada pengujian kromatografi lapis tipis (KLT) fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄ dan sebagai fase gerak yaitu n-heksan dan etil asetat (7:3) (Hsu dkk, 2011). Penggunaan fase gerak n-heksan dan etil asetat (7:3) merupakan hasil optimasi dari beberapa perbandingan. Hasil pengujian KLT diperoleh perbandingan eluen 7:3 dengan nilai *R_f* yang memenuhi syarat yakni terdapat pada kisaran 0,2 – 0,8 dan spot yang dihasilkan berupa spot tunggal. Hasil pengujian kromatografi lapis tipis yang dilakukan terhadap ekstrak angkak hasil fermentasi padat dengan beras sebagai substrat, diperoleh satu spot yang dapat berfluoresensi dan dapat diamati di bawah sinar UV pada λ 365 nm, dengan nilai *R_f* sebesar 0,71. Hasil analisis kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada Gambar 5.



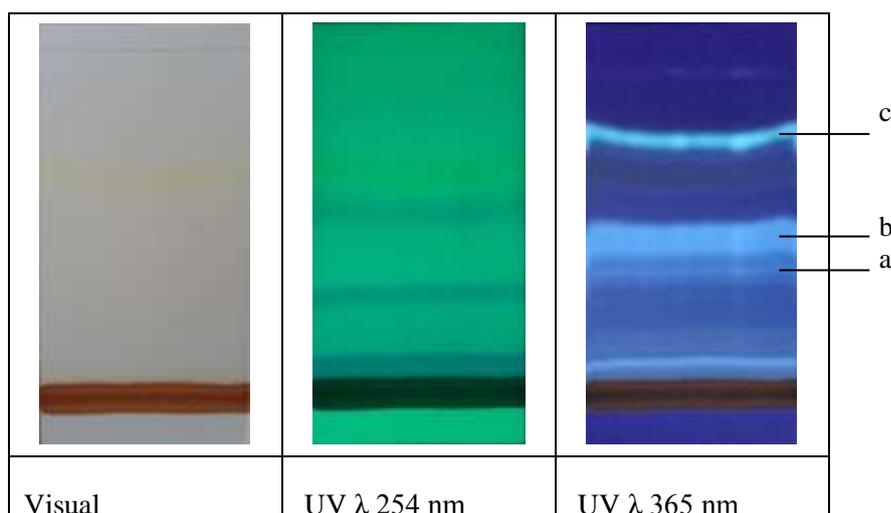
Gambar 5. Hasil analisis KLT ekstrak

Keterangan : A = Visual
 B = UV λ 254 nm
 C = UV λ 365 nm

Analisis Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Pengujian kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan komponen-komponen pada sampel, serta untuk mendapatkan komponen tunggal. Pada pengujian KLTP digunakan plat silika gel F₂₅₄ sebagai fase diam, dengan fase gerak n-heksan dan etil asetat (7:3) (Hsu dkk, 2011). Hasil elusi pada KLTP berupa pita yang dapat diamati secara visual dan diamati di bawah sinar UV pada λ 254 nm dan λ 365 nm. Hasil kromatografi lapis tipis preparatif

diperoleh tiga pita yang dapat berfluoresensi di bawah sinar UV λ 365 nm. Hasil kromatografi lapis tipis preparatif dapat dilihat pada Gambar 6.



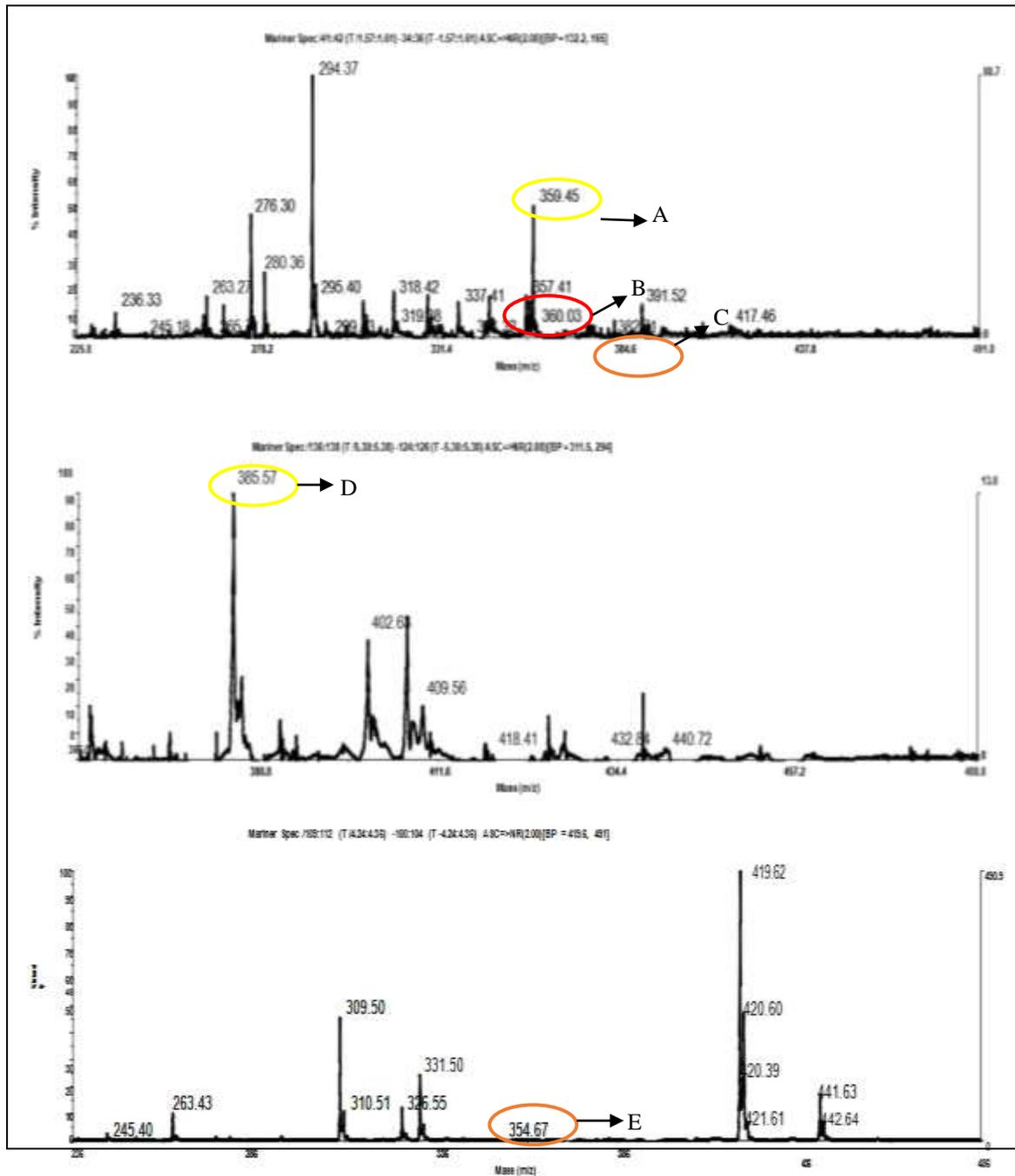
Gambar 6. Hasil analisis kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dengan fase gerak n-heksan dan etil asetat (7:3) menunjukkan pita 1 (a); pita 2 (b); dan pita 3 (c)

Analisis *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*

Analisis zat warna *Monascus purpureus* dengan *Liquid Chromatography – Mass Spectrometer* (LC-MS) dilakukan menggunakan instrumen HPLC yang dihubungkan dengan spektrometer massa yang dilengkapi dengan sumber ESI. Mode pemindaian dari 100 m/z sampai 1200 m/z yang dilakukan pada suhu 140°C. Kolom yang digunakan adalah Phenomenex 5 μ C18 (150 mm x 1 mm). Sampel yang diinjeksikan sebanyak 2 μ L. Fase gerak yang digunakan yaitu metanol dengan penambahan 0,3% asam format. Eluen dialirkan dengan laju alir 0,1 mL/menit secara isokratik, yaitu komposisi eluen tidak berubah selama analisis sampai sampel terelusi dari kolom.

Berdasarkan hasil analisis LC-MS pada sampel angka INACC-F01 hasil fermentasi padat dengan beras sebagai substrat, menunjukkan adanya pigmen utama *Monascus* dan senyawa baru yang teridentifikasi oleh detektor MS (*Mass spectrometer*). Pigmen utama yang diperoleh diantaranya monascin dengan bobot molekul 359,45, ankaflavin dengan bobot molekul sebesar 385,57, monascorubrin dengan bobot molekul 382,71, dan rubropunctatin dengan bobot molekul sebesar 354,67. Lain halnya dengan hasil identifikasi spektrofotometri UV-Vis terhadap ekstrak angka yang diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 486 nm yang diperkirakan adalah zat warna merah dari senyawa utama *Monascus* yaitu monascorubramin, dalam hasil identifikasi dengan LC-MS tidak ditemukan bobot molekul zat warna merah dari senyawa utama *Monascus* tersebut, akan tetapi diperoleh senyawa baru dengan bobot molekul sebesar 357,41.

Berdasarkan studi literatur, yang mendekati bobot molekul 357,41 adalah senyawa monascopyridine C yang merupakan senyawa turunan dari zat warna merah *Monascus* yaitu rubropunctamin dan monascorubramin. Senyawa monascopyridine C memiliki rumus kimia C₂₁H₂₇NO₄ dan kelarutan dalam air sebesar 795,3 mg/L. Spektrum massa hasil analisis LC-MS terhadap sampel INACC-F01 dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Spektrum massa dari sampel INACC-F01 yang menunjukkan bobot molekul; Monascin (A); Monascopyridine C (B); Monascorubrin (C); Ankaflavin (D); dan Rubropunctatin (E)

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada kapang *Monascus purpureus* yang diisolasi dari angkak hasil fermentasi padat dengan beras IR-64 sebagai substrat menunjukkan adanya senyawa utama dan senyawa baru dari zat warna *Monascus purpureus*.

Hasil analisis Spektrofotometri UV-Vis diperoleh satu puncak yang memiliki serapan 0,255 dengan panjang gelombang 486 nm yang menunjukkan senyawa monascorubramin yaitu zat warna merah pada *Monascus purpureus*. Hasil analisis LC-MS terhadap sampel INACC-F01 menunjukkan adanya zat warna baru yang memiliki bobot molekul sebesar 357,41 yaitu senyawa Monascopyridine C yang merupakan turunan senyawa dari zat warna merah *Monascus* yaitu monascorubramin dan rubropunctamin.

SARAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap senyawa Monascopyridine C dengan melakukan karakterisasi senyawa menggunakan NMR dan IR.

DAFTAR PUSTAKA

- Arianti W. 2016. Pengaruh Perbedaan Isolat *Monascus purpureus* Terhadap Produksi Zat Warna [Skripsi]. Tasikmalaya: Program Studi Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada.
- Feng Y., Shao Y., Chen F. 2012. *Monascus* Pigments. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1421-1440.
- Fifendy M., Irdawati. 2011. Intensitas Warna yang Dihasilkan Oleh *Monascus purpureus* pada Virgin Coconut Oil dengan Lama Fermentasi yang Berbeda [Laporan Penelitian]. Padang: Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Padang.
- Hsu Y.W., Hsu L.C., Liang Y.H., Kuo Y.H., Pan T.M. 2011. New Bioactive Orange Pigments with Yellow Fluorescence from *Monascus* Fermented Dioscorea. *J Agric Food Chem* 59: 4512-4518.
- Indriati N., Andayani F. 2012. Pemanfaatan Angkak Sebagai Pewarna Alami pada Terasi Udang. *JPB Perikanan* Vol. 7 No. 1: 11-20.
- Pollack R.A., Findlay L., Mondschein W., Modesto R.R. 2016. *Praktik Laboratorium Mikrobiologi (Laboratory Exercises in Microbiology)*, Edisi 4. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Pratiwi S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Priatni S., Damayanti S., Saraswati V., Ratnaningrum D., Singgih M. 2014. The utilization of solid substrates on *Monascus* fermentation for anticholesterol agent production. *Procedia Chemistry* 9: 34-39.
- 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.
- Srianta I., Zubaidah E., Estiasih T., Yamada M., Harijono. 2016. Comparison of *Monascus purpureus* Growth, Pigment Production and Composition on Different Cereal Substrates with Solid State Fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.
- Yulia N. 2009. Pembentukan Pigmen *Monascus purpureus* Pada Fermentasi Padat Dengan Limbah Topioka Sebagai Substrat [Skripsi]. Tasikmalaya: Prodi Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada.
- Yuliana A., Singgih M., Julianti E., Blanc P.J. 2017. Derivates of Azaphilone *Monascus* Pigments. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 9:183-194.