

¹STUDI STABILITAS BAHAN PEWARNA ALAMI YANG DIHASILKAN OLEH *Monascus purpureus* 3090

Djadjat Tisnadjaja

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI

Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong

Email : djadjatt@indo.net.id

Abstrak

Belakangan ini masyarakat di dunia, khususnya yang hidup di negara maju, mulai khawatir dengan dampak negatif terhadap kesehatan yang ditimbulkan oleh bahan kimia sintesis yang digunakan sebagai pewarna makanan. Kondisi ini telah mendorong perhatian dunia untuk kembali pada pemanfaatan bahan alami untuk pewarna makanan. Salah satu produk alami yang memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai pewarna pada industri makanan adalah senyawa-senyawa poliketida yang dihasilkan melalui proses fermentasi dengan menggunakan kapang *Monascus purpureus*. Melalui proses fermentasi fasa padat dengan menggunakan beras sebagai mediana, kapang *Monascus purpureus* dapat menghasilkan pigmen warna kuning (ankaflavin) dan merah (monascorubramin). Karena pada umumnya bahan alami memiliki kelemahan dalam hal stabilitas maka perlu untuk dikaji kestabilan dari warna yang dihasilkan melalui proses fermentasi ini. Dalam penelitian ini dipelajari mengenai pengaruh perbedaan suhu dan cahaya terhadap stabilitas hasil fermentasi didalam penyimpanan. Dari hasil pengamatan terlihat bahwa dengan memvariasikan suhu penyimpanan (suhu kamar, 30°C dan 40°C) dan penyimpanan selama 9 minggu terlihat bahwa tidak ada perubahan yang nyata terhadap sifat organoleptis termasuk warna dari hasil fermentasi ini. Sementara itu cahaya baik lampu maupun sinar matahari terlihat mempunyai pengaruh cukup nyata terhadap perubahan sifat organoleptis dari produk fermentasi ini. Pada penyimpanan dibawah cahaya lampu, terjadi perubahan warna pada lapisan atas dari sample (bagian yang langsung terkena cahaya) yang dimulai pada minggu kedua. Namun perubahan warna ini hanya terjadi pada lapisan tipis bagian atas saja, sementara bagian lain yang tidak terkena cahaya lampu tidak mengalami perubahan yang nyata. Selain adanya perubahan warna pada lapisan yang langsung terkena cahaya lampu, sample yang disimpan dibawah cahaya lampu juga mengalami perubahan bau (aroma), dimana mulai minggu keenam bau khas *Monascus powder* melemah dan pada minggu kesembilan tercium bau tengik. Hal yang sama terjadi pada sample yang disimpan dibawah cahaya matahari, dimana pada sample ini terjadi perubahan warna mulai minggu keempat dan perubahan bau terjadi pada minggu ketujuh.

Kata kunci : *Monascus purpureus*, poliketida, stabilitas, pewarna alami, penyimpanan

Abstract

Nowadays, people on the world especially they who live in developed country are concern about the negative effect of synthetic chemical use for food colorant. This condition was pulled back the world attention to the utilization of natural coloring agent for food. One of natural product which might be considered to be used as colorant in food industry are polyketide compounds produced through fermentation process by using *Monascus purpureus* mould. Through solid state fermentation by using rice as the medium, *Monascus purpureus* mould could produce yellow pigment (ankaflavin) and red pigment (monascorubramin). Since in general natural product is unstable, the stability of this colorant has to be studied. In this research work, has been studied the effect of various temperature and light on the stability during storage. The research result shows that there is no significant change on organoleptic properties, including color, of this fermentation product after 9 weeks storage in various temperatures (room temperature, 30°C, and 40°C). Whereas, light either lamp or sunshine caused significant change on the organoleptic properties of this fermentation product. The color on the top layer (the layer which is directly contact with the light) was changed when sample was located under the light. However, the color change was only on the surface or top layer, while the other part shows no significant change in term of color. Beside some change in color, the smell of sample was also changed. The smell was changed significantly after 9 weeks of storage for sample located under light of lamp and 7 weeks for sample located under light of sunshine.

Keywords : *Monascus purpureus*, polyketide, stability, natural coloring agent, storage

¹ Prosiding Seminar Nasional XI " Kimia dalam Pembangunan", Yogyakarta, 19 Juni 2008.

PENDAHULUAN

Sebagian besar bahan pewarna makanan yang digunakan pada saat ini berasal dari hasil sintesis. Dominasi senyawa sintetis pada bidang ini terjadi karena selain bahan yang dihasilkan memiliki sifat lebih stabil, warna lebih bervariasi dan lebih cerah juga bisa diproduksi dengan biaya lebih murah. Namun belakangan banyak hasil penelitian melaporkan bahwa senyawa-senyawa sintetis yang pada awalnya dikategorikan aman untuk digunakan sebagai bahan tambahan pangan (aditif), seperti tartrazine dan amaran terbukti bisa menimbulkan alergi atau bahkan bersifat karsinogenik (Janssen, 1997; Sukandar, 2003). Berdasarkan situasi ini banyak negara maju yang semakin memperketat penggunaan bahan sintetis sebagai bahan pewarna pada makanan.

Dengan perkembangan peraturan dan kesadaran konsumen yang semakin tinggi maka tuntutan akan kebutuhan bahan pewarna alami untuk makanan, yang lebih aman dari sisi kesehatan, semakin besar. Sebagai salah satu kemungkinan jawaban dari masalah ini adalah dengan mengembangkan pemanfaatan pigmen yang dibentuk oleh *Monascus purpureus* selama proses fermentasi. Selain menghasilkan inhibitor enzim HMG Co-A reductase dalam bentuk senyawa monakolin K atau lovastatin, fermentasi dengan menggunakan kapang *Monascus* spp juga banyak dimanfaatkan untuk memproduksi pigmen merah yang bisa dimanfaatkan sebagai pewarna makanan alami. Miyake *et al* (1984) melaporkan tentang pengaruh penambahan maltitol ke dalam media fermentasi yang mampu meningkatkan produktivitas pigmen dengan menggunakan kapang *Monascus* spp.

Sekitar lima pigmen polyketida bisa terbentuk selama proses fermentasi yaitu pigmen kuning (*monascin* dan *ankaflavin*), pigmen orange (*rubropunctatin* dan *monascorubrin*) serta pigmen merah (*monascorubramine*) yang merupakan pigmen utama yang dibentuk selama proses fermentasi (Chen & Johns, 1994, Tisnadjaja, 2006). Pigmen-pigmen yang terbentuk akan dipengaruhi oleh jenis kapang yang digunakan. Dengan menggunakan *Monascus purpureus* selain pigmen merah juga bisa dihasilkan pigmen kuning (*monascin*) dan pigmen orange (*monascorubrin*).

Dalam penelitian ini pengamatan hanya dilakukan terhadap pigmen merah dan pigmen kuning. Sementara itu pengamatan stabilitas dilakukan dengan melihat pengaruh kondisi penyimpanan yang berbeda terhadap stabilitas sifat organoleptis, nilai pH, kadar air, dan intensitas warna dari hasil fermentasi yang dikenal sebagai angkak atau *monascus powder* (MP).

BAHAN DAN METODA

Mikroba:

Mikroba yang digunakan untuk proses fermentasi adalah kapang *Monascus purpureus* TISTR 3090 yang merupakan galur koleksi Puslit Bioteknologi-LIPI.

Media:

Media yang digunakan untuk memelihara biakan mikroba adalah Potato Dextrose Agar (PDA). Sementara pengembangan inokulum dilakukan dengan menggunakan media cair yang mengandung tepung beras (5%), potassium dihydrogen fosfat (0,25%), sodium nitrat (0,15%), magnesium sulfat (0,1%), MSG (0,1%), kalsium klorida (0,001%) dan keasaman atau pH diatur pada nilai 6,2.

Kecuali dinyatakan lain, media yang digunakan untuk proses fermentasi fasa padat adalah beras hasil rendaman dengan penambahan 1 ml larutan glukosa 2 % dan 2 ml larutan sodium asetat 2 % ke dalam 100 g beras (Tisnadjaja, 2003).

Sterilisasi:

Kecuali untuk proses sterilisasi media fermentasi fasa padat yang dilakukan dengan cara pengukusan selama 2 jam, sterilisasi peralatan fermentasi dan media lainnya dilakukan dengan autoklaf 121°C selama 15 menit.

Pengembangan inokulum:

Pengembangan inokulum dilakukan dengan menggunakan media cair di dalam Erlenmeyer 250 ml yang berisi 50 ml media. Inkubasi dilakukan di dalam rotary shaker pada suhu kamar.

Fermentasi:

Proses fermentasi dilakukan dalam fasa padat dengan menggunakan botol sebagai reaktor dan inkubasi (kecuali dinyatakan lain) dilakukan sampai 14 hari.

Preparasi media fermentasi:

Kecuali dinyatakan lain, persiapan atau preparasi media fermentasi dilakukan melalui tahapan perendaman di dalam larutan air yang mengandung 0,3% glukosa dan 0,2% sodium asetat dengan perbandingan bahan berbanding air 1 : 1 selama semalam. Setelah direndam, media fermentasi ini ditiriskan dan kemudian dimasukkan kedalam botol fermentasi (masing-masing sebanyak 100 g) dan disterilisasi.

Preparasi sampel:

Pengambilan sampel dilakukan pada setiap periode inkubasi dimana teramati secara visual adanya perubahan warna yang signifikan.

Sampel yang diambil kemudian diekstraksi secara sederhana dengan menggunakan larutan etanol 70%.

Pengamatan stabilitas

Hasil fermentasi yang diperoleh kemudian dikeringkan dan digiling sehingga diperoleh bentuk tepung atau powder dan selanjutnya disebut sebagai *Monascus powder* (MP). Pengamatan stabilitas dari MP dilakukan terhadap beberapa parameter yaitu: organoleptis (bentuk, warna dan bau), nilai pH, kadar air dan intensitas warna.

Organoleptis

Pengamatan dilakukan dengan menggunakan panca indera terhadap perubahan sifat-sifat organoleptis yaitu: bentuk, warna dan bau.

Penentuan nilai pH

Pengukuran nilai pH dilakukan terhadap 0,1 g sampel MP yang dilarutkan dalam 50 ml air suling. Penentuan nilai pH dilakukan terhadap larutan warna yang dihasilkan setelah dipisahkan dari bagian yang tidak larut melalui penyaringan.

Penetapan kadar air

Penetapan kadar air dilakukan dengan membagi selisih berat awal dan berat setelah dikeringkan dalam oven suhu 105°C (sampai diperoleh berat tetap) dan dikali dengan berat awal.

Penentuan intensitas warna

Penentuan intensitas warna dilakukan dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada daerah sinar tampak. Pengukuran difokuskan pada pengamatan warna kuning dan merah oleh karena itu panjang gelombang yang dipilih adalah 416 nm untuk warna kuning, dan 523 nm untuk

warna merah. Dalam pengukuran ini sampel dilarutkan dalam air suling.

Pengemasan dan penyimpanan

MP yang digunakan untuk uji stabilitas dikemas dalam kemasan plastik klip transparan. Penyimpanan sampel dilakukan selama 9 minggu, dimana pada setiap minggu dilakukan pengambilan sampel dan analisis. Penyimpanan dilakukan dalam 3 variasi suhu yang berbeda yaitu : suhu ruang (24 – 27°C), suhu 30°C dan suhu 40°C, serta 3 variasi pencahayaan yaitu: terkena cahaya matahari, terkena cahaya lampu dan tidak kena cahaya (gelap).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh kondisi cahaya penyimpanan terhadap stabilitas MP

Stabilitas suatu produk bahan pangan atau bahan yang akan dikonsumsi secara oral dapat ditentukan dengan mengamati

selama 9 minggu dengan 3 variasi kondisi cahaya yang diberikan terlihat bahwa cahaya mempunyai pengaruh nyata terhadap stabilitas dari MP (Tabel 1). Dalam hal ini baik cahaya matahari maupun lampu terbukti mempercepat laju oksidasi dari asam lemak yang terkandung didalam MP, sehingga setelah penyimpanan selama 8 minggu mulai tercium bau tengik. Sementara pada sampel yang disimpan di tempat gelap (tanpa cahaya) tidak ada perubahan aroma yang signifikan sampai penyimpanan selama 9 minggu. Ketengikan merupakan indikasi adanya kerusakan dari asam lemak, yaitu adanya proses oksidasi dari asam lemak tak jenuh. Reaksi oksidasi ini dapat dipercepat oleh faktor-faktor lingkungan seperti cahaya dan panas atau keberadaan unsur lain seperti logam berat dan senyawa-senyawa penghasil radikal bebas (Syarief & Halid, 1992).

Melalui proses oksidasi asam lemak tak jenuh bisa dihasilkan

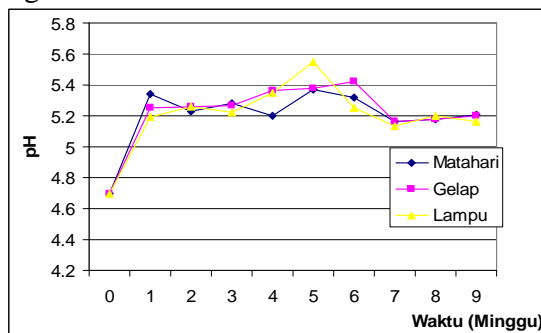
Tabel 1. Pengaruh cahaya terhadap sifat organoleptis selama penyimpanan

Perlakuan Minggu	Matahari		Lampu		Gelap	
	Warna	Bau	Warna	Bau	Warna	Bau
0	Merah	Karamel MP	Merah	Karamel MP	Merah	Karamel MP
1	Merah	Karamel MP	Mrh cklt muda	Karamel MP	Merah	Karamel MP
2	Merah	Khas MP	Mrh cklt muda	Khas MP	Merah	Khas MP
3	Merah	Khas MP	Mrh cklt muda	Khas MP	Merah	Khas MP
4	Mrh cklt tua	Khas MP	Mrh cklt muda	Khas MP	Merah	Khas MP
5	Mrh cklt tua	Khas MP	Mrh cklt muda	Khas MP	Merah	Khas MP
6	Mrh cklt tua	Khas MP	Mrh cklt muda	MP lemah	Merah	Khas MP
7	Mrh cklt tua	MP lemah	Mrh cklt muda	MP lemah	Merah	Khas MP
8	Mrh cklt tua	Agak tengik	Mrh cklt muda	Agak tengik	Merah	Khas MP
9	Mrh cklt tua	Tengik	Mrh cklt muda	Tengik	Merah	Khas MP

perubahan sifat organoleptis yang mungkin terjadi. Dalam hal ini sifat organoleptis yang diamati adalah perubahan warna dan bau atau aroma selama penyimpanan, dimana perubahan warna dan atau aroma bisa mengindikasikan adanya perubahan kimia dari bahan yang diamati stabilitasnya. Dalam penyimpanan

senyawa dalam bentuk asam, alkohol, ester, aromatis, aldehid atau beberapa bentuk senyawa lainnya yang menimbulkan bau tengik (Syarief & Halid, 1992). Senyawa baru yang terbentuk akibat proses oksidasi ini tentunya bisa berpengaruh terhadap nilai pH dari bahan pangan yang diamati. Dari pengamatan terhadap

nilai pH (Gambar 1) terlihat bahwa meskipun secara organoleptis teramati adanya proses ketengikan, namun nilai pH dari bahan tidak mengalami perubahan yang nyata. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa yang terbentuk dari proses ketengikan bukan merupakan senyawa yang bersifat asam ataupun basa atau jumlahnya belum cukup banyak untuk mempengaruhi nilai pH secara signifikan.



(b)

Gambar 1. Pengaruh perbedaan kondisi cahaya selama penyimpanan terhadap nilai pH

Dari gambar 1 terlihat bahwa perubahan pH yang cukup signifikan hanya terjadi pada minggu pertama dari penyimpanan. Karena pada tabel 1 ditunjukkan bahwa proses ketengikan mulai terjadi pada minggu ke 8,

ditunjukkan dengan data perubahan kadar air selama penyimpanan dalam kondisi cahaya yang berbeda (Tabel 2).

Pengaruh perbedaan suhu penyimpanan terhadap stabilitas MP

Secara umum laju reaksi kimia akan meningkat dengan adanya peningkatan suhu. Karena selain akibat kehadiran mikroba maka kerusakan atau deteriorisasi produk pangan umumnya terjadi karena proses kimia maka dalam penelitian ini telah diamati pengaruh perbedaan suhu penyimpanan terhadap stabilitas dari MP. Seperti pada pengamatan terhadap pengaruh perbedaan cahaya terhadap stabilitas dalam penyimpanan, dalam pengamatan terhadap pengaruh suhu parameter sifat organoleptis warna dan bau atau aroma menjadi tolok ukur dari penilaian. Dalam pengamatan selama 9 minggu terlihat bahwa dengan memvariasikan suhu penyimpanan antara suhu kamar (25-27°C) sampai 40°C terlihat bahwa warna yang dimiliki MP tidak mengalami perubahan yang signifikan, namun demikian untuk parameter bau terjadi sedikit perubahan pada sampel yang disimpan pada suhu 30°C dan 40°C

Tabel 2. Pengaruh cahaya terhadap perubahan kadar air selama penyimpanan

Minggu Perlakuan	Kadar air (%)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Matahari	5,62	6,65	6,93	7,31	7,91	7,94	7,95	8,39	7,85	8,31
Gelap	5,62	6,39	6,98	6,63	7,49	7,75	7,92	8,33	7,97	8,05
Lampu	5,62	6,22	7,01	6,70	7,38	6,87	7,22	7,21	6,73	6,90

sementara dari gambar 1 terlihat bahwa tidak ada perubahan nyata dari nilai pH pada waktu tersebut maka dapat disimpulkan bahwa proses ketengikan tersebut tidak cukup signifikan untuk merubah nilai pH. Proses ketengikan yang terjadi juga tidak berkaitan secara langsung dengan perubahan kadar air selama penyimpanan. Hal ini

yang terjadi mulai umur penyimpanan 6 minggu.

Berbeda dengan pada penyimpanan dengan adanya cahaya yang menyebabkan terjadinya ketengikan, pada penyimpanan dengan variasi suhu ini reaksi oksidasi yang menyebabkan ketengikan tidak terjadi

Tabel 3. Pengaruh suhu terhadap sifat organoleptis selama penyimpanan

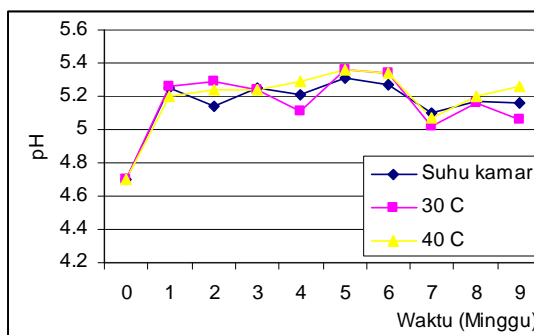
Suhu	Kamar		30°C		40°C	
	Warna	Bau	Warna	Bau	Warna	Bau
Minggu 0	Merah	Karamel MP	Merah	Karamel MP	Merah	Karamel MP
1	Merah	Karamel MP	Merah	Karamel MP	Merah	Karamel MP
2	Merah	Khas MP	Merah	Khas MP	Merah	Khas MP
3	Merah	Khas MP	Merah	Khas MP	Merah	Khas MP
4	Merah	Khas MP	Merah	Khas MP	Merah	Khas MP
5	Merah	Khas MP	Merah	Khas MP	Merah	Khas MP
6	Merah	Khas MP	Merah	MP lemah	Merah	MP lemah
7	Merah	Khas MP	Merah	MP lemah	Merah	MP lemah
8	Merah	Khas MP	Merah	MP lemah	Merah	MP lemah
9	Merah	Khas MP	Merah	MP lemah	Merah	MP lemah

(Tabel 3). Sedikit menurunnya bau khas MP kemungkinan diakibatkan oleh adanya pelepasan senyawa-senyawa yang mudah menguap dan merupakan unsur pembentuk aroma atau bau. Pada umumnya cita rasa atau aroma pada bahan makanan ditimbulkan oleh berbagai macam senyawa yang mudah menguap (volatil) seperti alkohol, amina dan senyawa-senyawa karbonil.

Menurut Sadler (1987), reaksi-reaksi yang melibatkan lipid atau lemak mempunyai energi aktivasi rendah (2 – 15 K.kalori/mol) sehingga sulit untuk berlangsung pada suhu

Variasi suhu penyimpanan antara suhu kamar sampai dengan 40°C terlihat tidak memberikan pengaruh nyata pada perubahan nilai pH untuk penyimpanan selama 9 minggu (Gambar 2). Ini tentunya sesuai dengan tidak adanya perubahan sifat organoleptis yang signifikan.

Sementara itu kadar air dari MP yang disimpan pada suhu kamar terlihat terus mengalami peningkatan selama penyimpanan dan ini berbeda dengan yang terjadi pada penyimpanan dengan suhu 30°C dan 40°C. Pada penyimpanan dengan suhu 40°C yang dilakukan dengan menggunakan inkubator, terlihat tidak ada perubahan dari kadar air selama 9 minggu pengamatan. Sedangkan pada penyimpanan dengan suhu 30°C terjadi peningkatan kadar air sampai penyimpanan minggu keenam, namun kembali menurun pada minggu selanjutnya (Tabel 4). Ini mungkin menunjukkan adanya proses penguapan yang lebih besar dibandingkan proses pengikatan uap air setelah kadar air mencapai nilai tertentu.



Gb. 2. Pengaruh suhu terhadap pH

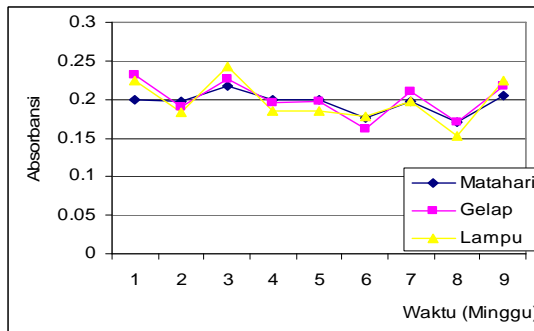
yang rendah. Namun demikian reaksi ini dapat dikatalisis oleh kehadiran logam atau pemberian cahaya.

Tabel 4. Pengaruh suhu terhadap perubahan kadar air selama penyimpanan

Minggu	Kadar air (%)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Suhu Kamar	5,62	6,81	7,32	8,02	7,52	8,06	8,54	8,26	8,83	8,78
30°C	5,62	6,24	6,91	7,08	7,22	7,59	7,17	5,83	5,92	6,69
40°C	5,62	5,62	5,76	5,25	5,32	5,17	5,96	5,40	5,72	5,22

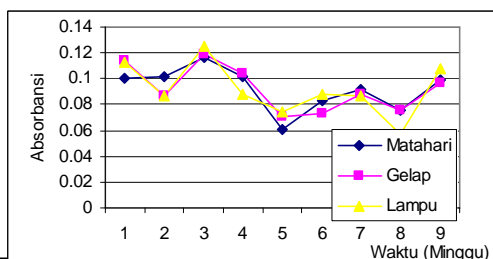
Pengaruh cahaya terhadap stabilitas warna dari MP

Dalam selang waktu penyimpanan selama 9 minggu dengan perlakuan yang berbeda dalam cahaya terlihat bahwa tidak ada pengaruh yang nyata terhadap intensitas warna kuning dari MP (Gambar 3) maupun warna merah



Gambar 3. Pengaruh cahaya terhadap intensitas warna pada λ 416 nm

(Gambar 4). Hal ini sedikit berbeda dengan pengamatan warna secara organoleptik atau visual (Tabel 1), dimana pemberian cahaya baik yang



Gambar 4. Pengaruh cahaya terhadap intensitas warna pada λ 523 nm

bersumber dari lampu maupun sinar matahari telah menyebabkan adanya perubahan warna yang cukup signifikan dan teramati mulai umur penyimpanan 4 minggu. Penjelasan

yang paling mungkin untuk hal ini adalah bahwa perubahan warna dari MP yang diakibatkan oleh cahaya hanya terjadi pada lapisan tipis yang langsung terkena cahaya tersebut dan tidak merubah bagian lainnya.

KESIMPULAN

Dari kegiatan penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa *Monascus Powder* atau MP memiliki stabilitas yang cukup baik dalam penyimpanan, dimana dalam penyimpanan selama 9 minggu tidak menunjukkan perubahan yang berarti. Suhu penyimpanan sampai 40°C tidak memberikan dampak yang berarti terhadap stabilitas MP dan intensitas warnanya, namun demikian penyimpanan harus dilakukan ditempat yang tidak terkena cahaya langsung, baik yang berasal dari lampu maupun matahari.

Bahan ini sebaiknya dikemas dalam wadah atau bungkus yang kedap udara dan berwarna gelap sehingga selain untuk menghindari cahaya juga tidak akan menyerap kelembaban lingkungan yang akan meningkatkan kadar airnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chen, Ming-Ho and Michael R. Johns, 1994, Effect of carbon source on ethanol and pigment production by *Monascus purpureus*, Enzyme Microb. Technol. Vol. 16, July 1994.
2. Janssen, M.M.T., 1997, Food additives, dalam John de Vries(ed), Food safety and Toxicity, CRC Press, New york, USA:63-75.

3. Sadler, G.D., 1987. Aseptic chemistry di dalam Principle of Aseptic Processing and Packaging (P.E. Nelson, ed.) The Food Processor Institute.
4. Syarief, R., H. Halid, 1992, Teknologi Penyimpanan Pangan, Penerbi Arcan, Bogor. Hal. 185-208.
5. Sukandar, Ukan. 2003, Singkong sebagai substrat yang potensial untuk produksi zat warna Monascus, Prosiding seminar Nasional Teknologi Proses kimia.
6. Tisnadjaja, D., 2006, Bebas kolesterol dan demam berdarah dengan angkak, Penebar Swadaya, Jakarta.