

PENGEMBANGAN PROSES PRODUKSI BAHAN BAKU OBAT BERKHASIAT MENURUNKAN KADAR KOLESTEROL DARAH MELALUI PROSES FERMENTASI¹

Djadjat Tisnadjaja

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI

Jl. Raya Bogor Km 46, Cibinong

Email: d.tisnadjaja@gmail.com

ABSTRAK:

Salah satu masalah yang menghambat pengembangan industri obat tradisional adalah ketersediaan bahan baku dengan kualitas yang konsisten secara kontinyu. Untuk mengatasi masalah ini perlu dikembangkan suatu alternative penyediaan bahan baku maupun sumber bahan bakunya. Proses fermentasi merupakan salah satu alternative teknologi yang mungkin untuk dimanfaatkan. Melalui proses fermentasi fasa padat dengan menggunakan kapang *Monascus* spp dan dengan bahan baku utama beras dapat diproduksi beras merah hasil fermentasi yang mengandung senyawa monakolin K dan beberapa bentuk monakolin lainnya. Senyawa monakolin K memiliki kesamaan struktur kimia dan fungsi dengan senyawa lovastatin yang banyak dimanfaatkan sebagai senyawa aktif dalam formulasi obat penurun kolesterol. Dengan kandungan senyawa monakolin K ini maka beras merah hasil fermentasi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional yang berkhasiat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Dalam penelitian ini telah dipelajari pengaruh penggunaan sumber karbon yang berbeda, jumlah inokulum yang digunakan serta pengaruh penambahan sumber nitrogen terhadap pembentukan senyawa monakolin K yang diukur sebagai lovastatin. Dengan menggunakan tiga sumber karbon yang berbeda yaitu kedelai, jagung dan beras terlihat bahwa beras merupakan sumber karbon yang lebih baik dibandingkan dua sumber karbon lainnya. Sementara dengan memvariasikan jumlah inokulum yang digunakan, yaitu 1%, 2% dan 3%, terjadi peningkatan yang cukup signifikan dari kadar monakolin K yang terbentuk pada saat jumlah inokulum yang diberikan ditingkatkan dari 1% (monakolin K terbentuk 0,58% b/b) menjadi 2% (monakolin K terbentuk 0,84% b/b). Pada saat jumlah inokulum yang diberikan ditingkatkan menjadi 3%, terlihat masih ada peningkatan kadar monakolin K yang terbentuk, tapi perbedaannya tidak cukup signifikan dimana kadar monakolin K yang terbentuk sebesar 0,91% (b/b). Sementara itu pemberian sumber nitrogen tambahan dalam bentuk monosodium glutamat (MSG) kedalam media sampai 0,15% memungkinkan untuk meningkatkan kadar monakolin K yang terbentuk, namun penambahan MSG lebih besar dari 0,15% tidak memberikan dampak yang menguntungkan.

Kata kunci: monakolin K, fermentasi, kolesterol, atherosklerosis, *Monascus purpureus*, kapang.

¹ Prosiding Seminar Nasional Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Solo 10-11 Juli 2007. ISBN 979-17094. Hal. 278-283

ABSTRACT

One of the problems which have to be faced on the development of traditional medicine is the inconsistency of quality and availability of raw material. To solve the problem has to be created an alternative supply or to search alternative raw material resources. Fermentation process is an alternative technology which has potential to be utilized. Through a solid state fermentation process using a mould strain of *Monascus* spp where rice is used as the main or the only carbon source could be produced red fermented rice (RFR) containing monacolin K and some other monacolin compounds. Monacolin K is similar in chemical structure and function with lovastatin a popular active compound for cholesterol lowering prescriptive drug. With the monacolin K content RFR has possibility to be used as raw material for traditional medicine which has function to lowered cholesterol level in blood. In this research work has been studied the effect of the application of difference carbon source, inoculums size and the addition of nitrogen source into media and their relation to the production of monacolin K compound which is determined as lovastatin. By using three difference carbon sources that are soybean, corn and rice, could be seen that rice is superior to the two other carbon sources. Whereas by varying the inoculums size, that are 1%, 2% and 3%, the production of monacolin K was significantly improved when the inoculum size raised from 1% (monacolin K produced is 0.58% w/w) to 2% (monacolin K produced is 0.84%). However, when the inoculum size is increase to 3% the production of monacolin K was increased but not significantly, where the monacolin K formed is 0.91% (w/w). While, addition of nitrogen source in form of monosodium glutamate (MSG) into media up to 0.15% could improve the production of monacolin K, but addition more than 0.15% has no positive effect.

Keywords : monacolin K, fermentation, cholesterol, atherosclerosis, *Monascus purpureus*, mould.

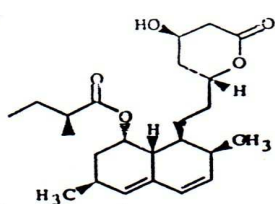
PENDAHULUAN

Disadari atau tidak, industri farmasi di negara kita Indonesia sangat tergantung pada bahan baku impor, khususnya senyawa-senyawa aktif hasil sintesis yang berharga sangat mahal. Pada awalnya ketergantungan akan bahan baku impor ini hanya terlihat pada industri farmasi modern yang mengandalkan senyawa-senyawa hasil sintesis kimia, namun belakangan hal ini juga mulai dirasakan oleh industri obat tradisional. Industri obat tradisional yang selayaknya mengoptimalkan pemanfaatan sumber daya hayati lokal pada akhirnya juga mengalami kendala akan sulitnya suplay bahan baku yang berkesinambungan dan dengan kualitas yang terjaga. Hal ini terjadi karena selain belum banyaknya petani yang tertarik dan menguasai teknik budidaya tanaman obat, juga banyak hasil panen tanaman obat yang mengalami pengolahan pasca panen yang kurang memenuhi standar yang ditetapkan. Sebagai akibat dari kondisi ini tentunya selain kurangnya jumlah ketersediaan bahan baku untuk industri obat tradisional mutu dari bahan baku yang dihasilkanpun seringkali tidak konsisten.

Kurangnya ketersediaan bahan baku obat tradisional ini telah menyebabkan beberapa industri kecil obat tradisional, yang tidak memiliki kemampuan untuk melakukan kegiatan budidaya sendiri ataupun melakukan pembinaan terhadap petani tanaman obat, untuk mengimpor bahan baku dari negara lain seperti Cina. Berdasarkan kondisi ini dirasa perlu untuk mencari alternatif lain dalam hal penyediaan bahan baku obat termasuk untuk industri obat tradisional. Salah satu pendekatan yang bisa dilakukan adalah dengan memanfaatkan proses fermentasi.

Salah satu senyawa aktif atau senyawa obat yang tingkat kebutuhannya terus berkembang belakangan ini adalah senyawa obat yang berfungsi untuk menurunkan atau mengontrol kadar kolesterol darah. Pasar dari obat penurun kolesterol ini bergerak sangat dinamis. Pasar yang sangat besar ini tumbuh secara cepat dan dikuasai oleh beberapa produk yang sukses seperti Lipitor (Pfizer's), Zocor dan

Mevacor (Merck), serta Pravachol (Bristol-Myers Squibb). Keempat penguasa pasar obat penurun kolesterol tersebut menggunakan senyawa statin sebagai senyawa aktifnya (Pharmaceutical News, 2004). Senyawa statin seperti lovastatin (Gambar 1) merupakan senyawa aktif yang sudah digunakan secara umum sebagai salah satu cara pengobatan bagi pasien dengan kadar LDL kolesterol tinggi.



Gb. 1. Lovastatin

Senyawa ini berperan dalam mengatur kadar kolesterol darah melalui mekanisme penghambatan kinerja dari enzim HMG-CoA reductase. Enzim HMG-CoA reductase merupakan salah satu enzim yang berperan dalam anabolisme kolesterol, yaitu pada tahap pengubahan HMG-CoA menjadi asam mevalonat.

Peningkatan pasar dari obat penurun kolesterol ini sejalan dengan meningkatnya kasus kematian akibat penyakit cardiovascular. Di Amerika kasus kematian akibat penyakit cardiovascular mencapai 950.000 kasus per tahun. Lebih dari 8 juta pasien di Amerika menggunakan statin sebagai obat untuk mengontrol kolesterolnya. Sementara data resmi yang dikeluarkan pemerintah menunjukkan bahwa pada tahun 2001 sebanyak 36 juta orang Amerika perlu menggunakan obat penurun kolesterol untuk mencegah serangan jantung.

Melalui suatu proses fermentasi baik dalam fasa padat maupun cair, bisa diproduksi suatu senyawa poliketida monakolin K yang secara struktur dan fungsi memiliki kesamaan dengan lovastatin. Secara tradisional kapang *Monascus spp*, termasuk *Monascus ruber* (Tanzawa *et al.*, 1980; Endo *et al.*, 1984; Endo *et al.*, 1986), dan *Monascus purpureus* (Tanzawa *et al.*, 1980; Chen and John, 1994; Chi Su *et al.*, 2003; Tisnadjaja, 2003; Permana *et al.*, 2004; Tisnadjaja *et al.*, 2004.) merupakan jenis mikroorganisme yang paling umum digunakan dalam proses fermentasi untuk menghasilkan senyawa monakolin K atau lovastatin dan senyawa monakolin lainnya. Selain kapang *Monascus spp*, senyawa monakolin juga bisa diproduksi dengan menggunakan *Aspergillus terreus* (Endo *et al.*, 1984; Samiee *et al.*, 1996) dan beberapa jenis kapang lainnya termasuk *Coniothyrium fuckelii* (Gerson *et al.*, 1995).

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mencari kondisi fermentasi optimum dalam menghasilkan senyawa monakolin K. Dalam penelitian ini telah dipelajari pengaruh perbedaan sumber karbon, galur kapang yang digunakan serta pengaruh penambahan sumber nitrogen terhadap pembentukan metabolit sekunder monakolin K.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Mikroba:

Mikroba yang digunakan untuk proses fermentasi adalah kapang *Monascus purpureus* TISTR 3090 dan galur hasil mutagenesis melalui metode penyinaran dengan lampu UV yang diberi nama *Monascus purpureus* S 35.

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 produksi 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 dan sterilisasi monascus powder pada saat pengemasan yang dilakukan dengan cara kering (oven 120°C selama 5 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 jam sebagai reaktor dan inkubasi (kecuali dinyatakan lain) dilakukan selama 14 hari.

Preparasi media fermentasi:

Kecuali dinyatakan lain, persiapan atau preparasi media fermentasi dilakukan melalui tahapan perendaman di dalam air 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.

Proses pemanenan:

Proses pemanenan diawali dengan pengeringan dalam oven dengan suhu 70°C selama 1-2 hari atau sampai kadar air berkisar 5%. Selanjutnya dilakukan penggilingan sampai diperoleh butiran dengan ukuran 80 mesh. Untuk menghilangkan atau mengurangi kandungan mikrobiologi, dilakukan sterilisasi kering dengan oven 120°C selama 5 jam.

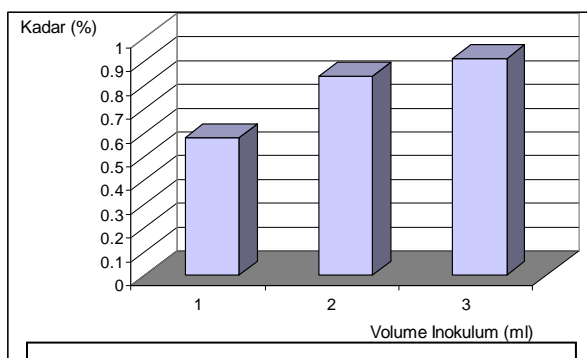
Analisis kimia:

Analisis kimia untuk kandungan lovastatin dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan TLC dengan eluen kloroform-metanol (10:1) dan lempeng silica gel GF₂₅₄. Sementara analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan HPLC. Kondisi HPLC yang digunakan adalah: kolom C 18 Boundafak, laju alir 1 ml/menit, dan pelarut methanol: air (10:1).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh jumlah inokulum terhadap pembentukan monakolin K

Dalam proses fermentasi jumlah inokulum yang diberikan dapat mempengaruhi jalannya proses fermentasi dan kadar senyawa target yang terbentuk. Dengan memberikan jumlah inokulum yang lebih besar berarti jumlah sel mikroba yang tersedia pada awal fermentasi akan lebih banyak sehingga dimungkinkan untuk berlangsungnya proses fermentasi yang lebih cepat. Namun demikian dapat diyakini bahwa pemberian inokulum yang terlalu besar belum tentu menguntungkan bila ternyata perbedaan yang dihasilkan tidak lagi signifikan. Untuk mempelajari hal ini telah dilakukan percobaan dengan memvariasikan jumlah inokulum sebesar 1%, 2% dan 3% pada proses fermentasi fasa padat dengan menggunakan galur kapang



Gambar 2. Variasi jumlah inokulum dan pengaruhnya terhadap kadar monakolin K

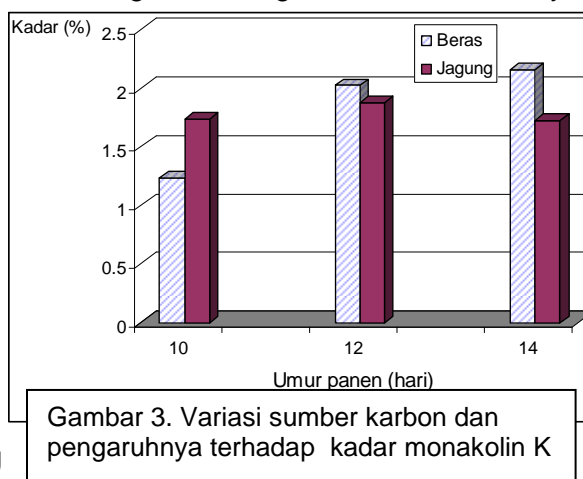
Monascus purpureus TISTR 3090 dengan media atau sumber karbon utama beras. Dalam kegiatan ini umur inokulum yang digunakan adalah 7 hari dan inkubasi dilakukan selama 14 hari.

Dari hasil pengamatan (Gambar 2), terlihat bahwa konsentrasi monakolin K yang terbentuk meningkat sejalan dengan peningkatan jumlah inokulum yang diberikan. Kadar monakolin K paling tinggi (0,91% b/b) diperoleh dengan menggunakan inokulum sebanyak 3 ml untuk 100 g beras (3%), sementara dengan pemberian inokulum sebesar 1% kadar monakolin K yang terbentuk hanya 0,58% (b/b). Hal ini menunjukkan bahwa dengan semakin banyak sel *Monascus purpureus* yang diberikan maka semakin tinggi metabolit sekunder monakolin K yang terbentuk. Namun demikian pengaruh jumlah inokulum ini hanya terlihat signifikan antara 1% dengan 2%, dimana masing-masing secara berurutan memberikan kandungan monakolin K sebesar 0,58% dan 0,84% (b/b). Sementara peningkatan jumlah inokulum yang diberikan menjadi 3% (0,91%) tidak memberikan perbedaan yang nyata bila dibandingkan dengan penggunaan inokulum sebesar 2%. Dengan hasil ini dapat dikatakan bahwa pemberian jumlah inokulum ideal untuk proses fermentasi untuk menghasilkan senyawa monakolin K dengan kapang *Monascus purpureus* TISTR 3090 adalah sebesar 2%.

Pengaruh penggunaan sumber karbon

Untuk mempelajari pengaruh penggunaan sumber karbon terhadap pembentukan senyawa monakolin K telah digunakan tiga sumber karbon yang berbeda yaitu beras, jagung dan kedelai.

Dari hasil penelitian (Gambar 3) terlihat bahwa beras memberikan hasil fermentasi dengan kandungan monakolin K tertinggi yaitu sebesar 2,02% (b/b) yang diperoleh setelah inkubasi selama 12 hari. Pada inkubasi selama 10 hari kandungan monakolin K masih lebih rendah yaitu 1,23% (b/b), sementara inkubasi lebih panjang dari 12 hari (14 hari) tidak diikuti dengan peningkatan monakolin K yang terbentuk secara signifikan. Dalam



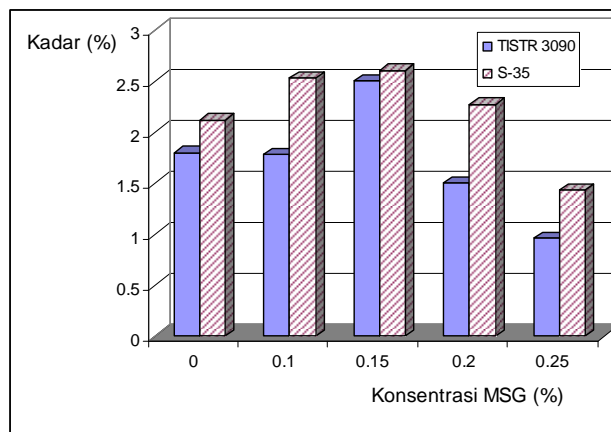
penggunaan jagung sebagai sumber karbon, kandungan monakolin K tertinggi adalah 1,87% (b/b) yang diperoleh setelah proses fermentasi berlangsung selama 12 hari. Hal yang menarik terlihat pada kandungan monakolin K yang terbentuk setelah 10 hari fermentasi dengan menggunakan jagung sebagai sumber karbon, dimana diperoleh kandungan monakolin K sebesar 1,73% (b/b) yang lebih besar dibandingkan yang diperoleh dengan menggunakan sumber karbon beras (1,23% b/b).

Dengan menggunakan prosedur penyiapan bahan baku yang sama seperti yang dipakai pada penyiapan beras dan jagung ternyata tidak memberikan hasil yang baik bila kedelai yang digunakan sebagai sumber karbon. Dengan cara ini, jumlah air yang terserap oleh kedelai ternyata jauh lebih tinggi dibandingkan dengan yang terjadi pada jagung dan beras. Kandungan air yang terlalu tinggi ini telah menyebabkan gagalnya proses fermentasi, dimana kontaminasi jadi lebih mudah terjadi dan kedelai sebagai media mudah membusuk. Untuk mempelajari penggunaan kedelai sebagai sumber karbon telah dilakukan dengan teknik persiapan media yang berbeda yaitu dengan menambahkan air terhadap kedelai secara terukur. Dalam hal ini dilakukan variasi penambahan air yaitu 10%, 20%, 30% dan 40%. Namun demikian hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar monakolin K

yang terbentuk masih jauh lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan dua sumber karbon lainnya. Kandungan monakolin K tertinggi (0,2% b/b) diperoleh pada media kedelai yang diberi tambahan air sebanyak 10 ml per 100 g kedelai atau 10% setelah proses fermentasi berlangsung selama 12 hari.

Pengaruh penambahan sumber nitrogen

Untuk mempelajari pengaruh penambahan sumber nitrogen kedalam media fermentasi telah digunakan monosodium glutamat (MSG). Dalam hal ini kedalam media fermentasi fasa padat (beras) ditambahkan MSG dengan variasi konsentrasi 0,1%, 0,15%, 0,2% dan 0,25%. Sementara galur kapang yang digunakan adalah



Gambar 4. Pengaruh penambahan MSG

Monascus purpureus TISTR 3090 dan galur mutannya *Monascus purpureus* S-35. Dari hasil penelitian (Gambar 4) terlihat bahwa penambahan sumber nitrogen dalam bentuk MSG kedalam media sampai konsentrasi 0,15% mampu meningkatkan produksi senyawa monakolin K oleh kedua galur yang digunakan terutama pada galur mutan S-35, namun penambahan MSG dengan konsentrasi lebih besar dari 0,15% bahkan berdampak negatif terhadap pembentukan senyawa monakolin

K. Hal ini menunjukkan bahwa nitrogen sebagai salah satu faktor pembatas pertumbuhan hanya dibutuhkan dalam jumlah terbatas, yaitu hanya untuk mencukupi kebutuhan sel memperbanyak diri pada fase eksponensial. Karena senyawa metabolit sekunder monakolin K lebih cenderung dibentuk pada saat pertumbuhan *Monascus purpureus* memasuki fase stasioner maka diharapkan fase eksponensial tidak berlangsung terlalu lama. Seperti ditunjukkan oleh data penelitian yang diperoleh dimana pemberian tambahan sumber nitrogen yang lebih besar hanya memperbaiki tingkat pertumbuhan tapi tidak berdampak positif terhadap pembentukan monakolin K.

KESIMPULAN

Dari kegiatan penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa penambahan inokulum yang diberikan, dalam range 1% sampai 3%, diikuti oleh peningkatan produksi senyawa monakolin K, namun perbedaan produktivitas dengan menggunakan inokulum hanya terlihat signifikan pada perubahan dari 1% ke 2%, sementara pemberian inokulum sebanyak 3% tidak memberikan pengaruh yang nyata.

Beras merupakan sumber karbon dan media yang lebih baik dibandingkan jagung dan kedelai untuk proses produksi senyawa monakolin K melalui fermentasi fasa padat dengan menggunakan kapang *Monascus purpureus* TISTR 3090. Sementara penambahan MSG sebagai sumber nitrogen kedalam media sampai 0,15% mampu meningkatkan kadar senyawa monakolin K yang terbentuk, baik dengan menggunakan *Monascus purpureus* TISTR 3090 maupun S-35, namun pemberian MSG lebih banyak berdampak negatif terhadap produksi senyawa monakolin K.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chi Su, Yuan, Wang, E.J-J, Tsen Lin, E.T. & Ming Pan, T., 2003, Production of the secondary metabolites c-aminobutyric acid and monacolin K by *Monascus*

2. Endo, Akira & K. Hasumi, 1984, Dihydromonacolin L and monacolin X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis, *The Journal of Antibiotics*, Vol.38, No. 3.
3. Endo, Akira, D. Komagata & H. Shimada, 1986, Monacolin M, a new inhibitor of cholesterol biosynthesis, *The Journal of Antibiotics*, Vol. 39 No. 12.
4. Gerson, G.F.& X, Xiao, 1995, Process for the production of lovastatin using *Coniothyrium fuckelii*, US Patent No. 5,409,820.
5. Ming-Ho Chen and Michael R. Johns, 1994, Effect of carbon source on ethanol and pigment production by *Monascus purpureus*, *Enzyme Microb. Technol.* Vol. 16, July 1994.
6. Permana, D.R., S. Marzuki & D. Tisnadjaja, 2004, Analisis kualitas produk fermentasi beras (Red Fermented Rice) dengan *Monascus purpureus* 3090, *Biodiversitas* Vol. 5, No. 1.
7. Pharmaceutical News, 2004, Cholesterol lowering statin products may be the next class of drugs to go over the counter, <http://www.news-medical.net>. Akses tanggal; 10 Mei 2005.
8. Samiee, S.M., N. Moazami, S. Haghghi, F.A. Mohseni, S. Mirdamadi & M.R. Bakhtiari, 1996, Screening of lovastatin production by filamentous fungi, *Iranian Biomedical Journal* 1996.
9. Tanzawa, K., S. Iwada, Y. Tsujita, M. Kuroda & K. Furuya, 1980, Preparation of monacolin K, US Patent No. 04323648.
10. The Kline Group, 2005, US cholesterol-lowering drugs 2005: Rx market analysis and switch forecast, <http://www.klinegroup.com>.
11. Tisnadjaja, D., 2003, Pengaruh penambahan glukosa dan sodium asetat pada proses produksi bahan penurun kolesterol *Monascus powder*, *Nusa Kimia*, Vol. 3, No. 1.
12. Tisnadjaja, D., S.M. Rinawati & D.R. Permana, 2004, Pengaruh jumlah inokulum terhadap pembentukan lovastatin pada proses fermentasi *Monascus Powder*, *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Proses Kimia VI*, FT UI, Depok.