

**Monascus sp. Pigment Potency as Simple Preservative in Food Ingredients**

Wahyu Aji Mahardhika<sup>1</sup>, Maulida Aqlinia<sup>1</sup>, Delfiani Anggias Putri<sup>1</sup>, Firda Sri Effendi<sup>1</sup>,  
 Vincentia Fenice Angger Maherani<sup>1</sup>, Sri Listiyowati<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Mikrobiologi, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

<sup>2</sup>Divisi Mikologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

**Article History**

Received : June 28<sup>th</sup>, 2022

Revised : July 20<sup>th</sup>, 2022

Accepted : August 10<sup>th</sup>, 2022

\*Corresponding Author:

**Sri Listiyowati**

Divisi Mikologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

Email:

[srili@apps.ipb.ac.id](mailto:srili@apps.ipb.ac.id)

**Abstract:** Everyday foodstuffs such as tofu, chicken, and fish are ingredients that have a short shelf life if stored outdoors or in the open air. The fungus *Monascus* sp. is a fungus whose pigment is often used in giving color to food. This study aims to determine the potential of *Monascus* sp pigment isolated from commercial red rice (Angkak) as a preservative in tofu, chicken, and fish at room temperature. The methods used included isolation of the fungus *Monascus* sp from commercial red rice (Angkak), macroscopic and microscopic morphological characterization, solid fermentation using rice, harvesting pigments with water solvent, and pigment resistance tests on tofu, chicken meat, and fish. The results obtained from the application of the crude extract of the *Monascus* sp. pigment in fish survived for two days, chicken meat lasted up to three days, and tofu lasted four days. Each experiment had different results during the organoleptic test and compared to a positive control, namely turmeric, proving that turmeric was still better at resisting food spoilage. This research needs to be investigated further regarding the potential if the pure extract of the *Monascus* sp pigment is used.

**Keywords:** Food ingredients, *Monascus*, preservatives, pigments, organoleptic test

**Pendahuluan**

Makanan adalah kebutuhan pokok manusia yang harus terpenuhi. Pada masa ini, industri makanan mengalami perkembangan dengan kemunculan produk-produk baru. Aspek yang menjadi perhatian dalam industri tersebut antara lain keamanan pangan. Keamanan pangan merupakan isu global dengan implikasi yang signifikan bagi kesehatan manusia. Organisasi Kesehatan Dunia (World Health Organization) melaporkan bahwa setiap tahun, makanan yang tidak aman menyebabkan penyakit minimum pada 2 miliar orang di seluruh dunia dan dapat berakibat fatal, yaitu kematian. Beberapa negara telah membuat kemajuan besar dalam pengendalian penyakit terbawa makanan (*Food Borne Disease*), namun jumlah penderitanya masih terus meningkat secara global (CDC 2011). Pengawet makanan menjadi salah satu strategi pengurangan risiko terjangkit terbawa

makanan, namun tanggapan negatif konsumen dan peningkatan peraturan yang membatasi senyawa kimia dan penggunaan antibiotik di bidang pertanian perlu menjadi pertimbangan dalam pembuatan bahan pengawet. Hal tersebut mendorong pengembangan senyawa alternatif untuk digunakan sebagai agen antimikroba. Otoritas di bidang pangan dan peneliti saat ini menghadapi tantangan besar untuk menghasilkan antimikroba dan antioksidan makanan alami untuk mengurangi penggunaan pengawet kimia sintetis dan tetap menghasilkan produk makanan yang aman dan sehat (Vendrucolo *et al.*, 2013).

Bahan alami yang pernah dimanfaatkan dalam pengawetan ialah pigmen cendawan *Monascus* sp. Genus *Monascus* termasuk ke dalam filum Ascomycota, kelas Eurotiomycetes, subkelas Eurotiomycetidae, ordo Eurotiales, dan famili Monascaceae dan saat ini terdiri atas 22 spesies. Kebanyakan spesies *Monascus* adalah homotalik, dapat

dijumpai struktur seksual dan aseksualnya. Genus *Monascus* dapat dicirikan sebagai aerobik, saprofit, prototrofik, mesofilik (suhu optimum 30–35°C), xerofilus lemah (pertumbuhan hingga aktivitas air 0,85), dengan metabolisme respiro-fermentatif. *Monascus* dapat menghasilkan enzim litik yang memungkinkan pertumbuhannya pada spektrum substrat yang berbeda, termasuk monosakarida, disakarida, pati, pektin dan pada spesies *M. ruber* yaitu selulosa dan etanol (Patakova, 2013).

Studi mengenai kemampuan preservasi genus *Monascus* dimulai pada tahun 1590, yaitu pada *Chinese Medicine Book* yang menggunakan *Monascus* sp. sebagai pewarna, penyedap, pengawet dan agen terapeutik. Tahun 1977, Wong dan Bau melaporkan pertama kali terdapat aktivitas antimikrob *Monascus* terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Studi pada tahun 2012 oleh Yang dan Mousa memanfaatkan pigmen *Monascus* sp. sebagai pengawet alami dalam makanan, menjaga rasa dan juga warna pada ikan dan daging (Feng *et al.*, 2019). Kemampuan preservasi ini diduga muncul dari pigmen yang dihasilkan selama fermentasi. *Monascus* sp. menghasilkan setidaknya 6 pigmen yang dikategorikan menjadi 3 warna, yaitu kuning (ankaflovin dan monascin), oranye (monascorubrin dan rubropunctatin) dan merah (monascorubramine dan rubropunctamine).

Berdasarkan latar belakang tersebut, pigmen dari ekstrak kasar *Monascus* diduga juga bisa menjadi pengawet alami bagi bahan makanan. Penelitian terkait penerapan ekstrak kasar pigmen *Monascus* sp. sebagai pengawet ke beberapa makanan mentah di suhu ruang belum banyak dilakukan dan berpotensi sebagai pewarna dan pengawet (Vendruscolo *et al.*, 2014; Agboyibor *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2021). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak kasar pigmen *Monascus* sp. dengan air sebagai pelarutnya terhadap beberapa bahan makanan yang sering dikonsumsi oleh manusia, antara lain tahu, daging ayam, dan ikan pada suhu ruang yang nantinya diharapkan memberi informasi terkait pengaplikasiannya dalam mengawetkan bahan makanan tersebut.

## Bahan dan Metode

### Isolasi Kapang *Monascus* sp. dari Beras Angkak

*Monascus* sp. diisolasi dengan metode tanam langsung dari beras angkak komersial yang diperoleh dari toko yang berada di Jln Suryakencana, Babakan Pasar, Kec Bogor Tengah, Kota Bogor, Jawa Barat. Isolasi *Monascus* sp. ditumbuhkan dengan cara menginokulasikan beras angkak sebanyak 3 titik pada medium cawan *Potato Dextrose Agar* (PDA). Isolasi dilakukan sebanyak enam pengulangan. Medium cawan berisi beras angkak diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37°C.

### Purifikasi dan Karakterisasi Morfologi Isolat Kapang

Koloni isolat cendawan yang tumbuh dimurnikan untuk pengamatan morfologi dengan memindahkan koloni ke cawan PDA baru dan diinkubasi selama 7 hingga 21 hari. Pengamatan morfologi isolat diamati, baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Pengamatan morfologi makroskopis koloni kapang yang tumbuh diamati terhadap warna, tekstur, diameter, *soluble pigment*, *radial furrow*, *growing zone*, *exudate drops*, dan *reverse of colony*. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat *Monascus* sp. kemudian diletakkan pada kaca benda yang telah ditetesi larutan asam laktat 3%, kemudian diamati hifa, konidia, dan struktur lainnya yang khas seperti kleistotesium menggunakan mikroskop binokuler.

### Fermentasi padat dan pemanenan pigmen

Bahan untuk media fermentasi padat adalah beras pera yang digunakan sebagai substrat (Yuan, 1980). Beras dicuci bersih kemudian dilakukan perendaman dalam air (1:1) selama satu malam. Sebanyak 100 g beras masing-masing dimasukkan ke dalam 9 buah labu Erlenmeyer, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf. Isolat kapang diremajakan kembali pada cawan PDA kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Akuades steril sebanyak 5 mL ditambahkan ke dalam kultur kapang pada akhir inkubasi, kemudian spora dilepaskan dengan cara digosok permukaan kultur menggunakan ose untuk dijadikan suspensi spora. Suspensi dihomogenkan dengan cara digoyang. Inokulum

yang digunakan diperkirakan mencapai kepadatan  $10^5$  spora/ mL (Babitha *et al.*, 2006).

Fermentasi padat dilakukan mengikuti Permana *et al.*, (2004) dengan modifikasi. Sebanyak 2 mL suspensi spora diinokulasikan ke dalam substrat yang berupa beras steril, kemudian dicampur-ratakan. Media fermentasi yang telah berisi suspensi spora diinkubasi selama 7 hingga 14 hari pada suhu ruang dalam keadaan statis hingga miselium memenuhi substrat dan terjadi perubahan warna. Pengamatan secara visual dilakukan setiap hari, dan setiap 2 hari labu dikocok agar pertumbuhan kapang merata.

### Pemanenan pigmen

Pemanenan pigmen ekstraseluler dilakukan dengan melarutkan hasil fermentasi dengan 100 mL akuades steril, kemudian larutan disaring menggunakan kain saring. Pembilasan dilakukan sebanyak 2 kali dengan volume yang sama. Larutan kunyit (100 gr dalam 100 ml air) digunakan sebagai kontrol positif.

### Uji ketahanan bahan pangan menggunakan pigmen *Monascus* sebagai pengawet

Uji ketahanan bahan pangan dilakukan untuk mengetahui pengaruh pigmen *Monascus* terhadap ketahanan beberapa bahan pangan atau potensi pigmen *Monascus* sebagai pengawet. Bahan pangan yang digunakan ialah tahu (ukuran 5 x 4 x 5 cm), ikan selar yang tidak dibuang isi perutnya berukuran sekitar 10 x 5 cm dan daging ayam berukuran sekitar 5 x 5 cm. Setiap perlakuan diamati terhadap beberapa parameter seperti perubahan tekstur, aroma, warna, lama waktu perubahan dan jenis kontaminan. Bahan yang sudah rusak tidak dilanjutkan pengamatan.

Perlakuan 1. Tahu (T):

- Tahu tanpa direndam larutan pigmen (kontrol negatif) (K-)
- Tahu direndam larutan pigmen 2 jam (P)
- Tahu direndam larutan kunyit (kontrol positif) (K+)

Perlakuan 2. Daging Ayam (A):

- Daging ayam tanpa direndam larutan pigmen (kontrol negatif) (K-)
- Daging ayam direndam larutan pigmen 2 jam (P)
- Daging ayam direbus dengan larutan pigmen 30 menit (R)
- Daging ayam direndam larutan kunyit (kontrol positif) (K+)

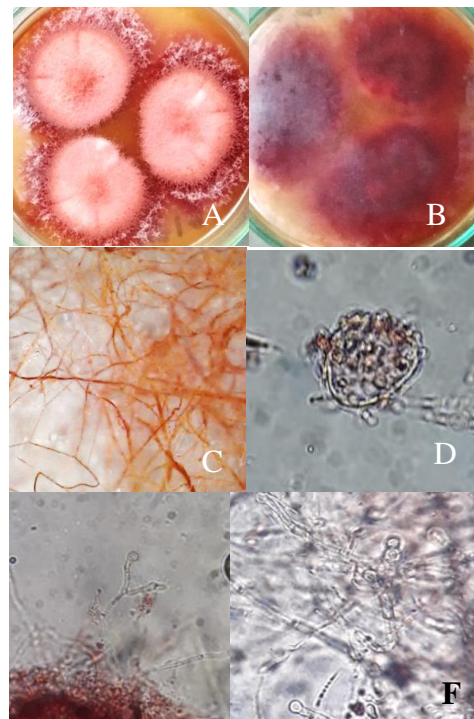
Perlakuan 3. Ikan (I):

- Ikan selar tanpa direndam larutan pigmen (kontrol negatif) (K-)
- Ikan selar direndam larutan pigmen 2 jam (P)
- Ikan selar direndam larutan kunyit (kontrol positif) (K+)

## Hasil dan Pembahasan

### Karakterisasi cendawan *Monascus* sp.

Hasil isolasi cendawan dari angkak diperoleh beberapa koloni. Koloni dipilih sesuai karakter morfologi dari *Monascus* merujuk pada Samsons *et al.*, (2007). Cendawan tersebut kemudian dipurifikasi dan diamati struktur morfologi makroskopis dan mikroskopisnya (Gambar 1).



**Gambar 1.** Isolat *Monascus* sp. A) Koloni pada media PDA; B) *Reverse of colony*; C) Miselium; D) Kleistotesium; E) Konidia; F) Hifa

Hasil karakterisasi morfologi pada media PDA diperoleh koloni berwarna merah dan memiliki tekstur permukaan seperti beludru (*velvety*). Warna koloni sebaliknya atau *reverse of colony* hyalin (tidak berwarna) dan terdapat *soluble pigment* berwarna merah pada media. Koloni memiliki *radial furrow* yang terbentuk dari tepi koloni ke bagian tengah. Diameter koloni sekitar 6 hingga 7 cm selama 7 hari.

Karakter mikroskopis yang didapatkan antara lain memiliki hifa yang bersepta dan berwarna hyalin, selain itu terdapat konidia serta kleistotesia.

### **Uji potensi pigmen *Monascus* sp. sebagai pengawet pada beberapa bahan pangan (tahu, ayam, ikan)**

Pengawetan salah satu proses untuk mempertahankan kesegaran bahan pangan dan memperpanjang umur simpan bahan. Pengawetan memiliki fungsi untuk menghambat atau menghentikan aktivitas mikroba pembusuk pada bahan pangan. Telah banyak dilaporkan bahwa rempah-rempah dan bumbu asli Indonesia berpotensi untuk dijadikan sebagai pengawet alami, salah satunya ialah kunyit (Muhaeminan *et al.*, 2018) sehingga pada percobaan yang dilakukan kunyit dijadikan sebagai kontrol positif.

Hasil pengamatan selama 24 jam menunjukkan bahwa tidak terdapat kontaminan dan perubahan warna untuk semua perlakuan. Namun dihasilkan aroma yang didominasi dengan aroma mulai berbau busuk. Hasil pengamatan selama 48 jam mulai terdapat kontaminan bakteri dan cendawan, warna bahan pangan ayam dan ikan mulai memucat. Akan tetapi tahu tidak mengalami perubahan warna pada perlakuan yang diberi ekstrak pigmen *Monascus* sp. dan tahu yang diberi ekstrak kunyit. Hasil pengamatan selama 72 jam menunjukkan bahwa bahan pangan yang masih dapat diamati ialah tahu dan ayam, sedangkan ikan sudah tidak dapat diamati. Adapun hasil pengamatan selama 96 jam menunjukkan bahwa bahan pangan yang dapat diamati hanya tahu.

Secara keseluruhan, bahan pangan tahu, ayam dan ikan yang diberi perlakuan ekstrak kunyit (kontrol positif) lebih awet dibandingkan dengan yang diberi perlakuan ekstrak pigmen *Monascus* sp. Kunyit berpotensi untuk dijadikan sebagai pengawet alami dikarenakan kunyit memiliki senyawa biaktif yang berperan sebagai antimikroba seperti flavonoid, fenol kurkumin, desmetoksin dan bidestometoksikumin, sehingga dengan keberadaan senyawa bioaktif, aktivitas metabolisme mikroba dapat berkurang ataupun terhambat dan mempertahankan daya simpan bahan pangan (Muhaeminan *et al.*, 2018). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pigmen dari *Monascus* sp. juga telah digunakan

sebagai pengawet daging dan ikan, namun belum optimal (Yang *et al.*, 2015).

Hasil pengamatan pada daging ayam, baik selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam menunjukkan bahwa daging ayam yang diberi perlakuan dengan direbus (AR) menggunakan ekstrak pigmen *Monascus* sp. lebih awet dibandingkan dengan ayam yang diberi pigmen *Monascus* sp. tanpa direbus dan perlakuan perendaman dengan ekstrak kunyit. Hal ini ditunjukkan dengan warna pada perlakuan AR yang masih merah muda walaupun mulai memudar. Adapun perebusan yang dilakukan pada bahan pangan yang memiliki tekstur lebih padat (ayam) menggunakan ekstrak pigmen *Monascus* sp. bertujuan agar memudahkan pigmen menyerap ke bahan pangan tersebut. Perlakuan ini tidak dilakukan pada tahu dan ikan dikarenakan tahu dan ikan memiliki tekstur yang lunak sehingga lebih mudah menyerap pigmen *Monascus* sp. Adapun hasil pengamatan pada ikan selama 24 jam dan 48 jam menunjukkan bahwa ikan lebih awet secara berturut-turut pada perlakuan direndam dengan ekstrak kunyit (K+), ekstrak pigmen *Monascus* sp. dan tanpa perlakuan (K-).

Penggunaan kunyit sebagai kontrol positif karena kunyit digunakan sebagai pengawet alami. Senyawa aktif dalam kunyit, seperti kurkumin, dan minyak atsiri, di antaranya dapat digunakan sebagai antimikroba, dan antioksidan (Muhaeminan *et al.*, 2018). Penggunaan pigmen merah dari *Monascus* diharapkan membawa terobosan dalam pengawetan makanan. Dilaporkan bahwa pigmen *Monascus* sp. dapat muncul dan diproduksi dalam bentuk terikat dengan sel. Produk-produk tersebut mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat, seperti azaphilones. Azaphilones merupakan pigmen cendawan yang memiliki aktivitas biologis berupa penghambatan aktivitas bermacam enzim.

Aktivitas ini mengarah ke sifat antimikroba, anti-human immunodeficiency-virus, antitumor, antioksidan, anti-inflamasi atau aktivitas dari karakteristik lainnya. Efek non-selektif azaphilones ini disebabkan oleh reaksinya dengan senyawa yang mengandung gugus amino, yaitu asam amino, protein atau asam nukleat. Pigmen merah menekan pertumbuhan bakteri gram-positif tanpa efek negatif pada kesehatan manusia. Aktivitas antitumor telah dilaporkan untuk pigmen kuning, oranye dan merah bersama dengan asam

monaskumat yang diisolasi dari angkak *M. pilosus*, monapurpyridine A dan pigmen oranye. Pigmen kuning ditemukan menunjukkan efek antikolesterolemia (Kim dan Ku, 2018).

Pertumbuhan mikroba kontaminan (cendawan dan bakteri) dari semua perlakuan meningkat selama penyimpanan. Hal ini disebabkan terjadinya kontaminasi dalam percobaan diduga karena teknik aspetik yang kurang optimal dalam pemanenan ekstrak pigmen *Monascus* sp. dari hasil fermentasi padat. Fermentasi terendam dapat menghasilkan pigmen *Monascus purpureus* yang lebih stabil dan dapat mencegah kontaminasi dibandingkan dengan fermentasi padat, sehingga saat ini produksi pigmen *Monascus purpureus* lebih banyak digunakan teknologi fermentasi terendam (Liu *et al.*, 2019). Selain itu, eksplorasi lebih lanjut perlu dilakukan dalam memanfaatkan ekstrak pigmen *Monascus* sp. sebagai pengawet bahan pangan dan kaitannya dengan senyawa bioaktif yang dihasilkan untuk mengoptimalkan potensinya sebagai pengawet bahan pangan.

## Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa *Monascus* sp dapat diisolasi dari angkak komersial. Berdasarkan uji organoleptik dari tekstur, warna, aroma, masa simpan, dan aroma ekstrak kasar bahwa penggunaan pigmen *Monascus* sp. sebagai bahan pengawet alami belum dapat memperoleh hasil yang optimal dibandingkan dengan kontrol positif yaitu kunyit.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terika kasih kepada teknisi Laboratorium Mikologi Departemen Biologi FMIPA IPB dan pihak-pihak yang membantu selama penelitian ini dikerjakan.

## Referensi

Babitha, S., Soccol, C.R. & Pandey, A., (2006). Jackfruit Seed—a novel substrate for the production of *Monascus* pigments through solid-state fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 44(4), pp.465-471.  
CDC. (2011). Burden of Foodborne Illness: Findings.

<http://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>. Diakses 17 Mei 2022.  
Feng LH, Li YQ, Sun GJ, & Zhao XZ. (2019). Antibacterial effect of orange *Monascus* pigment against *Staphylococcus aureus*. *Acta Alimentaria*. 48(2):169-176. DOI: <https://doi.org/10.1556/066.2019.48.2.4>  
Kim, D. and Ku, S., (2018). Beneficial effects of *Monascus* sp. KCCM 10093 pigments and derivatives: A mini review. *Molecules*, 23(1), p.98. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23010098>  
Liu J, Luo Y, Guo T, Tang C, Chai X, Zhao W, Bai J, & Lin Q. (2019). Cost-effective pigment production by *Monascus purpureus* using rice straw hydrolysate as substrate in submerged fermentation. *J. Biosci. Bioeng.* 30(30):1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2019.08.007>  
Muhaeminan, M., Haryati, S. & Sudjatinah, M., (2018). Berbagai Konsentrasi Ekstrak Kunyit Terhadap Sifat Fisikokimia Dan Organoleptik Fillet Ikan Bandeng Selama Penyimpanan 24 Jam. *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 13(2), pp.47-57. DOI: <http://dx.doi.org/10.26623/jtphp.v13i2.2557>  
Patakova P. (2013). *Monascus* secondary metabolites: production and biological activity. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 40(2):169-181. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-012-1216-8>  
Permana D.R., Marzuki S., & Tisnadjaja, D. (2004). The Analysis of the Quality of Red Fermented Rice (RFR) product with *Monascus purpureus* 2090. *Biodiversitas J Biol Divers.* 5(1):7-12. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d050102>  
Vendruscolo F, Tosin I, Giachini AJ, Schmidell W, & Ninow JL. (2014). Antimicrobial activity of *Monascus* pigments produced in submerged fermentation. *Journal of Food Processing and Preservation*. 38(4):1860-1865. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.12157>

- Yang Y, Liu B, Du X, Li P, Liang B, Cheng X, Du L, Huang D, Wang L, & Wang S. (2015). Complete genome sequence and transcriptomics analyses reveal pigment biosynthesis and regulatory mechanisms in an industrial strain, *Monascus purpureus* YY-1. *Scientific Reports*. 5(8331):1-9. DOI: 10.1038/srep08331
- Yang, Y., Xia, Y., Song, X., Mu, Z., Qiu, H., Tao, L. and Ai, L., (2021). The Potential of *Flosporium immaturus* as a Pigment-Stabilizer to Improve the *Monascus* Pigments Preservation, Flavor Profiles, and Sensory Characteristic of Hong Qu Huangjiu. *Frontiers in microbiology*, 12, p.678903. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.678903>
- Yuan (1980). Fermentative production of anka pigments. Dalam Steinkrauss, K.H. (ed.). *Proceeding of The Oriented Fermented Foods*. Bangkok, Thailand