

## 1. PENDAHULUAN

Angkak merupakan produk fermentasi yang secara tradisional berbasis nasi oleh *Monascus purpureus* yang potensial dikembangkan sebagai produk zat pewarna alami pada produk-produk makanan. Keuntungan menggunakan angkak adalah pigmen yang terkandung di dalamnya mempunyai kelarutan dan kestabilan yang tinggi terhadap pemanasan dan oksidasi cahaya, mudah dicerna, dan tidak beracun (Endang *et al.*, 1993). Selain itu bahan dasarnya mudah didapat dan bahan makanan aman. Pada umumnya angkak digunakan untuk mewarnai makanan seperti produk keju, ikan, pikel, sayuran, kedelai, daging asin, anggur dan minuman beralkohol lainnya (Ma *et al.*, 1998). Angkak dapat digunakan untuk pewarna yogurt, daging, sosis, dan untuk pengawet buah, sayur, serta produk ikan.

Selain untuk pewarna pangan, angkak dapat digunakan sebagai bahan obat, misalnya untuk penyakit infeksi, sakit perut, diare, demam berdarah, menurunkan kadar kolesterol, HDL kolesterol dan trigliserida dalam darah karena kandungan Monacolin K-nya. Produk *Monascus* juga dapat menurunkan tekanan darah tinggi karena menghasilkan GABA ( $\gamma$ -Aminobutyric Acid), dan dapat digunakan untuk mencegah kanker kulit, karsinogenesis, dan mutagenesis (Timotius, 2004).

Kapang *Monascus* menghasilkan beberapa macam pigmen yaitu monascorubrin dan rubropunctatin yang berwarna merah, monascin dan ankaflavin yang berwarna kuning, serta monascorubramine dan rubropunctamine yang berwarna ungu. Pigmen merah dan kuning merupakan metabolit sekunder yang normal pada pertumbuhan kapang, sedangkan pigmen ungu dapat dihasilkan melalui modifikasi kimiawi/enzimatis dari pigmen merah dan kuning (Hendry & Houghton, 1996). Pigmen-pigmen tersebut merupakan senyawa poliketida yang pembentukannya dipengaruhi oleh enzim poliketida sintetase.

*Monascus purpureus* menghasilkan berbagai jenis pigmen yang dapat direaksikan dengan senyawa lain seperti gula amino, etanol, asam amino, dan peptida. Penambahan senyawa pada pigmen dari *Monascus* dimaksudkan untuk menghasilkan pewarna

turunan dengan tingkat kelarutan dalam air yang lebih tinggi dan lebih stabil terhadap panas dan cahaya (Smith, 1993). Pigmen merah, kuning dan jingga tidak larut air, tetapi dapat bereaksi dengan gugus amino yang kemudian menghasilkan cincin piran sehingga larut air. Reaksi pigmen dengan gugus amino membuat daya larutnya pada air tinggi (Timotius, 2004). Pigmen yang dihasilkan diekstrak dengan menggunakan pelarut organik seperti etanol, eter, benzene, asam asetat, metanol, dan kloroform. Dalam pelarut-pelarut organik tersebut pigmen lebih stabil bahkan sampai pemanasan 100°C, stabil terhadap pemanasan dan oksidasi cahaya (Rahayu *et al.*, 1993).

Untuk meningkatkan produksi pigmen *Monascus* dapat dilakukan suplementasi seng (Zn). Suplementasi Zn dapat meningkatkan produksi pigmen merah sebanyak 2,5 kali dan menaikkan produksi pigmen kuning sebanyak dua kali (Hendry & Houghton, 1996). Menurut Bau & Wong (1979) dalam Rehm dan Reed, 1983), seng bertindak sebagai inhibitor pertumbuhan *Monascus purpureus* Went. dan juga sebagai stimulan konsumsi glukosa dan sintesis metabolit sekunder seperti pigmen. Salah satu bentuk senyawa seng yang umum digunakan dalam media fermentasi adalah ZnSO<sub>4</sub> dengan konsentrasi 0,1-1,0 gr.dm<sup>3</sup> (Stanbury & Whitaker, 1984). Ketersediaan ZnSO<sub>4</sub> sangat penting untuk penambahan biomassa dan produksi pigmen, khususnya pigmen merah (Timotius & Utama, 1997; Dominguez & Utama, 1997; Dominguez-Espinosa, 2003 dalam Timotius, 2004).

Produksi pigmen *Monascus* dipengaruhi oleh ketersediaan sumber karbon dan nitrogen, kelembaban, suhu, pH, dan kualitas inokulum. Kestabilan pigmen dipengaruhi oleh suhu (variasi perlakuan pemanasan), pH (keasaman), oksigen, aktivitas air, dan cahaya (Timotius, 2004). Kelembaban awal sangat penting bagi pigmentasi karena menentukan peningkatan aktivitas glukoamilase. Pigmen merah yang dihasilkan sangat rendah jika tingkat kelembabannya rendah. Kelembaban yang tinggi akan menghasilkan lebih banyak glukosa karena aktivitas enzim tersebut. Glukosa tersebut kemudian diubah menjadi etanol (Lotong & Suwanarit, 1990; Schmitt & Blanc, 2001 dalam Timotius 2004).

*Monascus purpureus* memerlukan suhu tertentu untuk pertumbuhannya. Menurut Pepler & Perlman (1979), pertumbuhan *Monascus purpureus* Went. terjadi pada suhu 20°C-37°C. Habitat hidupnya bervariasi mulai dari beras, biji oat, kedelai, sorgum, tembakau hingga silase (Samson *et al.*, 1984). Pertumbuhan *Monascus* dapat berlangsung baik pada suhu optimum 30°C dan pH 4-8 (Yong Smith, 1993; Hamdi *et al.*, 1997 dalam Timotius 2004). Produksi pigmen juga sangat dipengaruhi oleh mutu inokulum yang banyak mengandung askospora atau askomata. Jenis sumber karbon tidak hanya mempengaruhi jumlah tetapi juga jenis pigmen yang dihasilkan (Timotius, 2004).

Pertumbuhan dan metabolisme *Monascus* dipengaruhi oleh aerasi yang diberikan selama pertumbuhan berlangsung. Produksi metabolit sekunder sangat memerlukan kondisi aerasi yang baik. Aerasi diperlukan untuk menjaga persediaan oksigen untuk pertumbuhan maupun untuk produksi metabolit sekunder. Jika oksigen dalam keadaan terbatas, produksi etanol meningkat sedangkan produksi biomassa dan pigmen menurun (Hajjaj *et al.*, 1999a dalam Timotius, 2004).

Di samping pigmen, *Monascus* juga memproduksi bermacam-macam metabolit non-pigmen, seperti citrinin (agen *nephrotoxic*) yang dihasilkan oleh *Monascus ruber*, lovastatin (agen hipokolesteremik), dan monascidin (agen antibakteri) (Timotius, 2004). Monascidin A, komponen yang diisolasi dari kultur *Monascus purpureus* menghambat bakteri dari genus *Bacillus*, *Streptococcus*, dan *Pseudomonas*. Adanya aktivitas antibakteri tersebut memungkinkan adanya efek pengawetan dari penggunaan produk fermentasi *Monascus*. Dua pigmen kuning *Monascus purpureus* memiliki fungsi bakteriostatik dalam konsentrasi rendah melawan *Bacillus subtilis*. Bakteri gram positif secara umum lebih kuat dihambat daripada bakteri gram negatif (Erdogrul & Azirak, 2004).

Antibiotik adalah senyawa kimia yang diproduksi oleh mikroorganisme yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme (Boyd, 1984) yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang diproduksi oleh mikroba pada fase stasioner (Schlegel & Schmidt, 1994). Senyawa metabolit sekunder dihasilkan oleh mikroorganisme saat

nutrien dalam media mulai berkurang dan disertai dengan adanya perubahan pH, maka muncul racun-racun sebagai kegiatan metabolit yang salah satunya adalah antimikroba (Jutono, 1975). Antibiotik sebagai produk samping untuk metabolisme bakteri, jamur, dan mikroorganisme lainnya memiliki mekanisme kerja antibakteri, yaitu penghambatan sel, penghambatan sintesis DNA atau RNA (Volk & Wheeler, 1984).

Menurut Boyd (1984), tes untuk menentukan aktivitas suatu jenis antimikroba secara kualitatif adalah dengan *disk diffusion*. Metode untuk melaksanakan uji difusi yaitu menginokulasi suatu tabung agar yang mencair dengan organisme. Medium agar yang telah diinokulasi dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan padat atau organisme uji dioleskan ke agar padat pada cawan petri. Larutan yang diuji kemudian diterapkan pada permukaan medium agar untuk melihat apakah senyawa itu dapat mencegah pertumbuhan organisme (Tortora *et al.*, 1995). Mikroorganisme tersebut akan terhambat oleh aktivitas antimikroba (setelah inkubasi) yang ditunjukkan dengan zona penghambatan. Jika setelah 24 jam kemudian tidak tampak pertumbuhan bakteri di sekitar kepingan-kepingan kertas tersebut, maka bakteri tersebut dapat dihambat pertumbuhannya oleh senyawa yang diuji. Besar kecilnya daerah kosong sekitar kepingan kertas itu sesuai dengan konsentrasi senyawa yang terkandung di dalamnya (Dwijoseputro, 1994). Diameter zona penghambatan yang terbentuk bersifat proporsional terhadap kerentanan mikroorganisme penguji. Dengan demikian dapat ditentukan keefektifan dari jenis antimikroba yang diuji (Cappucino & Sherman, 1983). Pengaruh dari zat antimikrobia terhadap kurva pertumbuhan mikroorganisme didasarkan pada sifat sel mikroorganisme tersebut apakah bakteriostatik, bakterisida, atau bakteriolitik (Jutono, 1975).

Angkak dalam penelitian ini akan diuji antibakteri dengan dua jenis bakteri yaitu *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif, berbentuk bulat, tidak berspora, dan bersifat fakultatif anaerobik. *E. coli* juga disebut koliform fekal karena sering ditemukan dalam saluran usus hewan dan manusia sehingga sering digunakan sebagai indikator kontaminan kotoran. Sebagai organisme indikator, jika *Escherichia coli* terdapat dalam jumlah yang banyak menunjukkan bahwa air telah mengalami pencemaran (Fardiaz, 1992).

*Bacillus subtilis* adalah golongan bakteri gram positif, berbentuk batang, bersifat motil dan anaerobik. Bakteri ini dapat membentuk spora dan termasuk bakteri mesofilik. *Bacillus subtilis* dapat menyebabkan basi pada nasi. Dalam industri kimia, bakteri ini memproduksi protease bakteri dimana digunakan dalam pengempukan daging dan untuk menghilangkan noda pakaian (Fardiaz, 1992).

Tujuan dari usulan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh beberapa suhu ekstraksi dan waktu ekstraksi ekstrak angkak terhadap sifat fisik (dalam hal ini warna), sifat kimia (yang ditunjukkan dengan pH), dan efek antibakteri ekstrak angkak khususnya terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

