

Pengembangan Metode Analisis Sitrinin dan Upaya Penurunan Produksi Sitrinin dalam Fermentasi Cair *Monascus purpureus*

Catur Jatmika^{1,2*}, Amir Musadad Miftah¹, Marlia Singgih Wibowo¹

Artikel Penelitian

Abstract: Citrinin, a fluorescent compound that contaminates a number of agricultural products, is a toxic compound especially to the kidneys and liver. This study aimed to develop analysis method for citrinin by HPLC and to reduce the level of citrinin in broth extract from *Monascus purpureus* fermentation microbiologically. The citrinin extraction method from fermentation broth was optimized by various pH and extracting solvents. The citrinin extract was incubated with *Bacillus firmus* bacteria at various growth phases. The levels of citrinin in the extract decreased significantly after incubating for 24 hours with the bacteria. Citrinin was analyzed HPLC by fluorescence detector at λ_{exc} 330 nm and λ_{em} 500 nm, mobile phase 0.033 M phosphoric acid: acetonitrile (1: 1), flow rate 1 mL/min with an average retention time of 6.1 minutes. The recovery was in the range of 78-83%. The precision method as shown by the coefficient of variance of 2.1%, with limit of detection and quantitation 0.03 $\mu\text{g/mL}$ and 0.11 $\mu\text{g/mL}$ respectively. Linearity was expressed by a correlation coefficient (r) of 0.9996 and a coefficient of variation of the regression function (V_{x0}) of 1.3%. The citrinin level in the extract was 0.69 $\mu\text{g/mL}$. The levels of citrinin after incubation with nutrient broth media contain bacterial culture aged 5 hours, 9 hours, and 14 hours were 0.56 ± 0.03 , 0.27 ± 0.02 , 0.26 ± 0.01 , and 0.24 ± 0.01 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Incubation of *Bacillus firmus* bacteria on citrinin extract significantly reduced the levels of citrinin in the extract.

Keywords: Citrinin, HPLC, Fluorescence, *Monascus purpureus*

Abstrak: Sitrinin, suatu senyawa berfluorosensi pencemar sejumlah hasil pertanian, merupakan senyawa toksik terutama pada ginjal dan hati. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis sitrinin secara KCKT dan menurunkan kadar sitrinin dalam ekstrak kaldu hasil fermentasi *Monascus purpureus* secara mikrobiologi. Metode ekstraksi sitrinin dari kaldu fermentasi dioptimasi dengan berbagai pH dan pelarut pengekstraksi. Ekstrak sitrinin diinkubasi dengan bakteri *Bacillus firmus* pada berbagai fase pertumbuhan. Kadar sitrinin dalam ekstrak menurun secara signifikan setelah diinkubasi selama 24 jam dengan bakteri tersebut. Hasil penelitian menunjukkan sitrinin dapat dianalisis dengan sistem KCKT detektor fluorosensi pada λ_{eks} 330 nm dan λ_{emisi} 500 nm, fasa gerak asam fosfat 0,033 M : asetonitril (1 : 1), laju alir 1 mL/menit dengan waktu retensi rata-rata 6,1 menit. Perolehan kembali berada pada rentang 78-83%. Presisi metode ini tercermin pada nilai koefisien variansi 1,3 %, batas deteksi 0,03 $\mu\text{g/mL}$ dan batas kuantitasi 0,11 $\mu\text{g/mL}$. Linearitas dinyatakan dengan koefisien korelasi (r) 0,9996 dan koefisien variasi fungsi regresi (V_{x0}) sebesar 1,3%. Kadar ekstrak sitrinin adalah 0,69 $\mu\text{g/mL}$. Kadar sitrinin setelah diinkubasi dengan media *nutrient broth*, biakan bakteri usia 5 jam, 9 jam, dan 14 jam berturut-turut adalah $0,56 \pm 0,03$, $0,27 \pm 0,02$, $0,26 \pm 0,01$, dan $0,24 \pm 0,01$ $\mu\text{g/mL}$. Inkubasi bakteri *Bacillus firmus* pada ekstrak sitrinin secara signifikan menurunkan kadar sitrinin dalam ekstrak.

Kata kunci: Sitrinin, KCKT, fluoresensi, *Monascus purpureus*

¹ Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

² Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia

Korespondensi:

Catur Jatmika
caturjatmika@farmasi.ui.ac.id



Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 4.0 International License

Pendahuluan

Monascus purpureus adalah kapang utama yang digunakan dalam pembuatan angkak. Angkak adalah beras yang difermentasi oleh kapang dan penampaknya berwarna merah. Angkak sudah sejak lama digunakan sebagai bahan bumbu, pewarna, dan obat karena mengandung bahan bioaktif berkhasiat. Kapang menghasilkan pigmen yang tidak toksik dan tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh (1).

Monascus purpureus juga diketahui menghasilkan senyawa antikolesterol, yaitu lovastatin (2). Sifat ini dimanfaatkan sebagai obat untuk program diet, pencegah aterosklerosis, jantung koroner, dan stroke. Pemberian lovastatin secara rutin kepada penderita hiperkolesterolemia dapat menurunkan kolesterol darah total hingga 30 % (1,2).

Namun, selain menghasilkan kedua zat di atas, *Monascus purpureus* juga menghasilkan suatu mikotoksin, yaitu sitrinin. Sitrinin diketahui bersifat nefrotoksik dan hepatotoksik. Sitrinin sering dilaporkan sebagai kontaminan pada berbagai hasil pertanian. Proses penanaman, pemanenan, dan penyimpanan merupakan proses yang rentan terhadap kontaminasi sitrinin (3,4). Sampai saat ini, belum ada regulasi khusus yang mengatur persyaratan kontaminan mikotoksin pada produk hasil pertanian ataupun makanan. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode analisis yang praktis untuk mendeteksi keberadaan mikotoksin.

Berbagai usaha yang telah dilakukan untuk menurunkan produksi sitrinin. Diantaranya adalah mengubah komposisi media, mencari strain *Monascus* lain yang tidak menghasilkan sitrinin, dan adanya proses perlakuan pasca fermentasi (5, 6). Kedua usaha terakhir ini belum memberikan hasil yang diharapkan. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah pemanfaatan mikroba untuk biotransformasi sitrinin. Diketahui *Bacillus firmus* merupakan salah satu mikroba yang toleran terhadap sitrinin. Bakteri ini diharapkan dapat melakukan biotransformasi, menurunkan produksi sitrinin tanpa menurunkan produksi pigmen warna dan lovastatin.

Pendeteksian hasil biotransformasi sitrinin dibutuhkan metode analisis sitrinin yang memenuhi syarat. Analisis sitrinin secara KCKT banyak dikembangkan menggunakan berbagai detektor, seperti UV, fluoresensi, dan PDA. Penggunaan detektor fluoresensi memberikan sensitivitas jauh lebih baik dibandingkan dengan detektor UV (6,7). Namun demikian, pengembangan metode sitrinin tetap perlu dikembangkan karena kondisi sampel yang jauh berbeda. Sebagai contoh pengembangan metode KCKT detektor fluoresensi sebelumnya diarahkan untuk analisis pada hasil fermentasi kapang lain sehingga ada potensi interferensi ketika digunakan dalam sistem fermentasi dalam *Monascus purpureus* (7).

Artikel ini melaporkan proses pengembangan metode analisis sitrinin dengan KCKT detektor fluoresensi kemudian hasil biotransformasi (upaya penurunan) produksi sitrinin dalam fermentasi cair *Monascus purpureus*.

Bahan dan Metode

Bahan

Sitrinin (Sigma Aldrich), kapang *Monascus purpureus* galur induk (ITBCC-HD-F001) dan bakteri *Bacillus firmus* (ITBCC-HD-F003), ekstrak ragi (Difco), ekstrak malt (Oxoid), pepton (Oxoid), glukosa, agar (Difco), etil asetat (Merck), kloroform (Merck), methanol (Merck), etanol (Merck), asetonitril (Merck), aquadest, kapas berlemak, kain kertas, aluminium pembungkus.

Metode

Timbangan analitik, lemari pengering, penghancur miselium, lemari laminar air flow, autoklaf, alat pembakar Bunsen, jarum Ose, cawan petri, pengocok putar (Junke&Kunkel KS 501D), penangas air, pH meter (Becman 50), HPLC (Shimadzu), mikropipet, dan alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Pengembangan metode analisis sitrinin

Fasa gerak dan larutan standar sitrinin disiapkan dengan cara sebagai berikut: 1,902 g asam fosfat diencerkan dengan aquabides hingga 500 mL sehingga diperoleh konsentrasi 0,033 M. Larutan disaring dengan filter 0,45 µm. Larutan standar sitrinin dibuat pada konsentrasi 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1, 1,2, dan 1,4 µg/mL dalam metanol.

Uji kesesuaian sistem kromatografi

Larutan sitrinin (0,2 µg/mL) disuntikan ke dalam sistem HPLC kolom C-18 (Sunfire) dengan fasa gerak asam fosfat 0,033 M: asetonitril (1:1) menggunakan detektor fluorosensi dengan laju alir 1 mL/menit. Uji kesesuaian sistem diukur berdasarkan parameter keberulangan penyuntikan, faktor ikutan, dan resolusi (8).

Uji linearitas

Larutan standar sitrinin dengan konsentrasi 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1, 1,2, dan 1,4 µg/mL disuntikkan ke dalam sistem KCKT. Kelinearan kurva baku diukur menggunakan parameter koefisien korelasi (r) dan koefisien variasi fungsi regresi (V_{x0}) (8,9).

Penentuan batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi dan batas kuantitasi dihitung menggunakan data kurva kalibrasi. Batas deteksi dan batas kuantitasi diperoleh berturut-turut dengan persamaan sbb: $3S_{y/x}/b$ dan $10S_{y/x}/b$. Nilai $S_{y/x}/b$ diperoleh dari pengolahan data kurva baku dan hasil regresi linearnya (8,10).

Optimasi ekstraksi

Optimasi ekstraksi dilakukan dengan menambahkan sitrinin pembanding dalam media YMP (Komposisi media YMP: ekstrak malt 0,3 %, ekstrak ragi 0,3 %, pepton 0,6 %, glukosa 2 % dan air). Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etil asetat dan kloroform pada beberapa pH. Pengukuran dilakukan dengan menghitung perolehan kembali dari masing-masing percobaan.

Uji akurasi dan presisi

Uji akurasi dilakukan dengan menambahkan sejumlah sitrinin pembanding ke dalam 10 mL media YMP. Konsentrasi yang ditambahkan adalah 80%, 100%, dan 120% dari konsentrasi aktual sitrinin (asumsi 0,2 µg/mL). Uji presisi dilakukan dengan menambahkan sejumlah sitrinin pembanding 6 sampel dengan konsentrasi yang sama pada 10 mL YMP. Prosedur uji yang dilakukan adalah sebagai berikut: 10 mL sampel diasamkan menggunakan H_2SO_4 hingga pH 2,5 kemudian diekstraksi 5 kali menggunakan etil asetat. Ekstraksi dilakukan menggunakan labu Erlenmeyer dan dikocok dengan pengaduk putar dengan kecepatan 100

rpm selama 5 menit. Ekstraksi pertama dilakukan menggunakan 10 mL etil asetat, ekstraksi selanjutnya menggunakan 5 mL sebanyak 4 kali. (ekstraksi total menggunakan 30 mL etil asetat). Fasa etil asetat dikumpulkan kemudian diuapkan dalam penguap vakum pada suhu 30°C dengan kecepatan putaran rendah hingga jumlahnya kurang dari 2 mL. Etil asetat yang tersisa dikenakan volumenya hingga 5 mL kemudian disaring menggunakan membran filter 0,45 µm. Selanjutnya larutan disuntikkan dalam sistem KCKT.

Pengaruh inkubasi bakteri *Bacillus firmus* terhadap kadar sitrinin dalam ekstrak

Penyiapan media dan peralatan steril

Semua peralatan gelas yang akan digunakan pada pekerjaan dengan kondisi aseptik disterilkan menggunakan autoklaf. Jarum Ose disterilkan dengan cara diflambir. Media cair YMP dibuat dengan cara mencampurkan 500 mL air suling dengan 1,5 g ekstrak malt, 1,5 g ekstrak ragi, 3 g pepton, dan 10 g glukosa dalam labu Erlenmeyer 500 mL. Media NA dibuat dengan cara melarutkan 2,8 g NA dalam 100 mL air dalam labu Erlenmeyer 100 mL. Media NB dibuat dengan melarutkan 1,3 g NB dalam 100 mL air pada labu Erlenmeyer 100 mL. Seluruh media tersebut disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan suspensi *Monascus purpureus*

Suspensi *Monascus purpureus* dibuat dengan memindahkan miselia ke dalam potter steril kemudian dicampur dengan air suling steril lalu digerus hingga homogen. Kepekatan suspensi diatur sampai nilai transmittan bernilai 25% pada serapan maksimumnya. Seluruh perkerjaan dilakukan pada kondisi aseptik.

Fermentasi *Monascus purpureus* dalam media cair YMP

20 mL suspensi kapang dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer steril 250 mL dicampur dengan 80 mL media YMP steril. Seluruh pekerjaan dilakukan dalam kondisi aseptik. Hasil campuran diaduk dalam pengaduk putar dengan kecepatan 120 rpm diinkubasi selama 7 hari pada suhu kamar.

Ekstrak kaldu hasil fermentasi

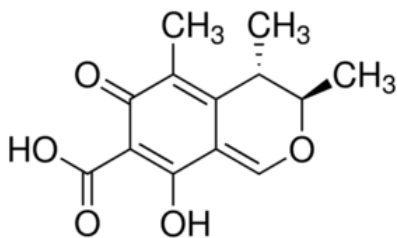
Pada usia 7 hari biakan dipisahkan antara kaldu dan selnya. 300 mL media tersebut diasamkan hingga pH 4 dengan H₂SO₄ kemudian diekstraksi 3 kali dengan 200 mL etil asetat. Hasil ekstraksi ditampung, diuapkan dengan penguap vakum pada suhu 40°C dengan kecepatan putaran rendah hingga kering ditambah 10 mL etil asetat dan ditampung dalam wadah. Ekstrak ini akan digunakan pada percobaan pengaruh penambahan isolat *Bacillus firmus* pada fermentasi cair *Monascus purpureus*.

Inkubasi bakteri *Bacillus firmus* pada ekstrak sitrinin

Bakteri dipindahkan dari media nutrient agar ke media *nutrient broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5, 9, dan 14 jam. Sebanyak 5 mL kultur bakteri dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 100 mL steril secara aseptik ditambah 5 mL media NB steril. Sebanyak 1 mL ekstrak sitrinin dalam etil asetat diencerkan hingga 10 mL kemudian ditambahkan ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi suspensi bakteri secara aseptik. Campuran diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar. Selanjutnya dilakukan penetapan kadar sama dengan prosedur pada uji akurasi dan presisi.

Hasil dan Diskusi

Sitrinin (**Gambar 1**) memiliki gugus kromofor pada strukturnya sehingga dapat dideteksi menggunakan detektor UV. Selain itu, sitrinin memiliki efisiensi fluoresensi yang tinggi sehingga dapat dideteksi menggunakan detektor fluorosensi.



Gambar 1. Struktur Sitrinin

Uji kesesuaian sistem dilakukan untuk memastikan sistem kromatografi yang digunakan sesuai dengan kondisi analisis. Parameter yang dievaluasi pada uji kesesuaian sistem adalah keberulangan penyuntikan, faktor ikutan, dan

resolusi. Hasil uji keberulangan penyuntikan diperoleh nilai KV 0,89 % (syarat keberterimaan <2 %), sedangkan faktor ikutan dan resolusi berturut-turut (rata-rata) adalah 1,24 dan 3,03. Nilai faktor ikutan masih lebih dari 1 namun hal ini tidak signifikan berpengaruh karena tidak ditemukan puncak lain sekitar puncak analit (8). Nilai resolusi memenuhi syarat karena lebih besar dari 1,5.

Uji linearitas dilakukan untuk membuktikan adanya hubungan linier antara konsentrasi analit dengan respon. Uji dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi antara luas puncak dengan konsentrasi analit. Persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi dievaluasi dengan menghitung koefisien korelasi (r) dan koefisien variansi fungsi regresi (V_{x0}). Hasil pengujian menunjukkan nilai r = 0,9994 (r ≥ 0,999) dan nilai V_{x0} = 1,332 % (V_{x0} < 5%). Dengan demikian, secara umum pengujian kelinearan kurva kalibrasi memenuhi persyaratan validasi (8-11).

Penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi pada penelitian ini dihitung secara statistik dari data kurva kalibrasi. Nilai S_{y/x} dihitung dari data kurva kalibrasi untuk memperoleh nilai batas deteksi (LOD) dan batas kuantisasi (LOQ). Hasil perhitungan menunjukkan batas deteksi dan batas kuantisasi sampel berturut-turut adalah 0,03 µg/mL dan 0,11 µg/mL (8-11).

Optimasi ekstraksi dilakukan untuk memilih kondisi ekstraksi yang sesuai untuk digunakan pada uji kecermatan (akurasi). Metode ekstraksi yang terpilih adalah metode yang memberikan perolehan kembali yang terbaik. Optimasi ekstraksi dipilih karena metode preparasi sampel yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair. Faktor yang diperhatikan pada optimasi ekstraksi ini adalah pemilihan pelarut, dan pH ekstraksi.

Hasil optimasi ekstraksi dapat dilihat pada **Tabel 1**. Hasil menunjukkan pH sistem sangat mempengaruhi efisiensi ekstraksi. Adanya peningkatan perolehan kembali yang signifikan pada ekstraksi menggunakan etil asetat dari 54,63 % (pH = 4) menjadi 83,10 (pH = 2,5). Sitrinin yang bersifat asam akan cenderung berada dalam bentuk molekulnya dalam suasana asam. Hal ini menyebabkan sitrinin lebih mudah terekstraksi dalam pelarut organik.

Tabel 1. Optimasi ekstraksi menggunakan sitrinin pembeding

Pelarat Organik	Perolehan Kembali (%)*	
	pH = 4	pH = 2,5
Etil asetat	54,63	83,10
Kloroform	43,72	74,20

Keterangan : Nilai perolehan kembali merupakan nilai rata-rata dari 3 percobaan (n = 3)

Tabel 2. Hasil Uji Kecermatan

Sampel	Recovery (%)			Rata-rata (%)	Standar Deviasi
	1	2	3		
80 %	77,25	81,44	77,31	78,67	2,40
100 %	81,90	84,20	83,20	83,10	1,15
120 %	79,38	81,96	85,17	82,17	2,90

Percobaan orientasi ekstraksi pada pH = 6 (pH asal media) memberikan hasil perolehan kembali yang lebih kecil ($\pm 23 \%$). Etil asetat memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan kloroform. Penambahan kloroform saat ekstraksi menghasilkan lapisan emulsi (lapisan ketiga) yang terpisah antara fasa media dengan fasa organik. Hal ini menyebabkan sitrinin tidak terekstraksi sempurna sehingga hasil perolehan kembali lebih rendah.

Uji akurasi dilakukan menggunakan tiga konsentrasi berbeda (masing-masing tiga sampel). Konsentrasi sitrinin yang digunakan untuk uji akurasi adalah $0,2 \mu\text{g/mL}$. konsentrasi ini didasarkan pada kadar sitrinin dalam sampel pada kaldu fermentasi selama 7 hari. Data uji kecermatan dapat dilihat pada **Tabel 2**. Perolehan kembali berada pada rentang 78,67 – 83,10 %. Hasil yang diperoleh pada perolehan kembali cukup memenuhi nilai persyaratan validasi. Rentang perolehan kembali yang diizinkan pada rentang konsentrasi analit tersebut adalah 80-110 % karena konsentrasi sitrinin yang berada pada sampel simulasi adalah $0,2 \mu\text{g/mL}$ (8). Dengan demikian, metode memenuhi persyaratan uji kecermatan pada konsentrasi aktual 100 % dan 120 % (8).

Presisi menunjukkan seberapa dekat perbedaan nilai pada saat dilakukan pengulangan pengukuran dan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif. Hasil uji presisi dapat dilihat pada **Tabel 3**. Kriteria yang harus dipenuhi (menurut Horwitz) adalah nilai koefisien variasi tidak lebih dari $2^{(1 - 0,5 \log C)}$ dengan C adalah konsentrasi dalam fraksi desimal. Konsentrasi yang digunakan adalah $0,2 \mu\text{g/mL}$ sehingga kriteria koefisien variasi yang harus dipenuhi tidak lebih dari 14,41 %. Hasil menunjukkan pengujian presisi dapat diterima karena nilai KV 2,12 % ($< 14,41 \%$) (8, 10).

Percobaan ini dilakukan untuk melihat pengaruh penambahan bakteri *Bacillus firmus* (dalam media NB) yang diinkubasikan dengan ekstrak sitrinin selama 24 jam. Percobaan dilakukan dengan menambahkan beberapa jenis biakan bakteri *Bacillus firmus* dengan usia berbeda (5, 9, dan 14 jam) disertai suatu kontrol negatif (penambahan media NB tanpa isolat bakteri). Usia (5, 9, dan 14 jam) dipilih karena merepresentasikan masing-masing fasa pertumbuhan *Bacillus firmus*. (Waktu 5, 9, dan 14 jam berturut-turut merepresentasikan fasa lag, log, dan stasioner pertumbuhan isolat bakteri tersebut).

Tabel 3. Hasil Uji Keseksamaan

Sample Uji Presisi	Luas Puncak	Konsentrasi (µg/mL)
1	7681384	0,328
2	7923946	0,337
3	7817888	0,333
4	7402884	0,317
5	7685946	0,328
6	7732781	0,330
Standar Deviasi		0,007
Rata-rata		0,329
KV (%)		2,127

Tabel 4. Pengaruh Inkubasi Bakteri *Bacillus Firmus* Terhadap Kadar Sitrinin Dalam Ekstrak

Percobaan	Kadar Sitrinin (µg/mL)				Standar Deviasi	F _{hitung}	F _{tabel}
	1	2	3	Rata-rata			
A	0,60	0,54	0,54	0,56	0,03	168,07	4,066
B	0,27	0,28	0,24	0,27	0,02		
C	0,26	0,25	0,26	0,26	0,01		
D	0,24	0,23	0,24	0,24	0,01		

*Keterangan:

A = Inkubasi tanpa penambahan bakteri (Inkubasi dengan media NB tanpa bakteri)

B = Inkubasi dengan biakan bakteri usia 5 jam

C = Inkubasi dengan biakan bakteri usia 9 jam

D = Inkubasi dengan biakan bakteri usia 14 jam

Hasil percobaan dapat dilihat pada **Tabel 4.** Nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara percobaan A, B, C, dan D dimana terjadi penurunan sekitar 55% kadar sitrinin. Kadar sitrinin awal yang diberikan pada setiap percobaan adalah 6,9 µg/mL. Percobaan ini menjelaskan adanya proses biotransformasi sitrinin yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus firmus*. Penurunan kadar sitrinin terbesar terjadi pada percobaan inkubasi dengan biakan bakteri usia 14 jam. Walaupun tidak signifikan bila dibandingkan dengan percobaan inkubasi dengan biakan bakteri pada usia lainnya. Hal ini kemungkinan disebabkan sifat bakteri yang sudah berada pada fase stasioner yang lebih

fokus pada mempertahankan diri (bukan pertumbuhan). Sebagai respon terhadap kurangnya nutrisi dan tekanan faktor lingkungan lainnya, bakteri lebih banyak menghasilkan metabolit sekunder yang dapat mendegradasi sitrinin sehingga kadar sitrinin yang terdeteksi lebih rendah dibandingkan dengan biakan lainnya (12). Penurunan kadar ini membuktikan adanya proses biotransformasi sitrinin yang dilakukan bakteri *Bacillus firmus*.

Kesimpulan

Metode analisis sitrinin yang dikembangkan yaitu sistem deteksi fluoresensi dengan λ_{eks} 330 nm dan λ_{emisi} 550 nm, fasa gerak asam fosfat 0,033

M : asetonitril (1:1), laju alir 1 mL/menit dan waktu retensi sitrinin rata-rata 6,1 menit dapat digunakan untuk analisis kadar sitrinin. Akurasi metode berada pada rentang 78,67-83,11 %. Presisi metode digambarkan dengan nilai KV 2,12 %, dengan batas deteksi dan batas kuantisasi berturut-turut 0,03 µg/mL dan 0,11 µg/mL. Inkubasi bakteri *Bacillus firmus* pada ekstrak sitrinin secara signifikan menurunkan kadar sitrinin dalam ekstrak.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam tulisan ini.

Referensi

1. Mohankumari HP, Naidu KA, Narasimhamurthy K, Vijayalakshmi G. Bioactive Pigments of *Monascus purpureus* Attributed to Antioxidant, HMG-CoA Reductase Inhibition and Anti-atherogenic Functions. *Frontiers*. 2021; 5: 1-11.
2. Klimek M, Wang S, Ogunkanmi A. Safety and Efficacy of Red Yeast Rice (*Monascus purpureus*) as an Alternative Therapy for Hyperlipidemia. *P&T*. 2009. 34(6). 313-327.
3. Silva LG, Pereira AMPT, Pena A, Lino CM. Citrinin in Foods and Supplements: A Review of Occurrence and Analytical Methodologies. *Foods*. 2021. 10(14). 1-33.
4. Turner NW, Subrahmanyam S, Piletsky SA. Analytical Methods for Determination of Mycotoxins: A Review. *Anal. Chim. Acta*. 2008. 168-180.
5. Devi P, Govind NC, Rodrigues C. Biotransformation of Citrinin to Decarboxycitrinin Using an Organic Solvent-Tolerant Marine Bacterium, *Moraxella* sp. MB1, *Marine Biotech*. 2006. 8. 129-138.
6. Wang Y, Gao H, Xie J, Li X, Huang, Z. Effects of Some Flavonoids on the Mycotoxin Citrinin Reduction by *Monascus aurantiacus* Li AS3.4384 during liquid-state fermentation. *AMB Express*. 2020. 10:26. 1-10.
7. Xu B, Jia X, Gu L, Sung C. Review on the Qualitative and Quantitative Analysis of Mycotoxin Citrinin, *Food Control*. 2006. 17. 272-282.
8. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2004, 1(3), 117-135.
9. Ibrahim S. Berbagai Pendekatan Pengujian Kelinearan Kurva Baku pada Metode Analisis Instrumental, *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 2005; 30(1), 30-34.
10. Ibrahim S. Berbagai Penetapan pada Penaksiran Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi Suatu Metode Analisis Instrumen. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 2004, 29 (4), 153-159.
11. ICH Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). 2005. 1-13.
12. Ruiz B, Chavez A, Forero A, Huante YC, Romero A, Sanchez M, Rocha D, Sanchez B, Sanoja RR, Sanchez S, Langley E. Production of Microbial Secondary Metabolites: Regulation by the carbon source. *Critical Reviews in Microbiology*. 2010, 36(2): 146-167.