

Peningkatan Produksi *8-Hydroxy 9,12-Octadecadienoic Acid (8-HODE)* dari Kapang Endofit *Curvularia lunata* BioMCC Fe-00283 dengan Optimasi Media Fermentasi

(Enhancement of 8-Hydroxy 9,12-Octadecadienoic Acid (8-HODE) Production by Endophytic Fungi *Curvularia lunata* BioMCC Fe-00283 Using Fermentation Medium Optimization)

WAHONO SUMARYONO^{1*}, VINDYATRI WIDAYANTI²,
ERWAHYUNI ENDANG PRABANDARI³

¹Kedeputian Teknologi Agroindustri dan Bioteknologi-BPPT, Jln. MH Thamrin No 10, Jakarta.

²Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.

³Balai Pengkajian Bioteknologi-BPPT, Gedung 630, Kawasan Puspiptek Serpong, Tangerang.

Diterima 4 Januari 2014, Disetujui 4 Maret 2014

Abstrak: *8-Hydroxy 9,12-octadecadienoic acid (8-HODE)* adalah salah satu asam lemak alifatik dari kelompok senyawa oksilipin yang menunjukkan aktivitas biologis. Telah dilaporkan sebelumnya bahwa *Curvularia lunata* BioMCC FE-00283, kapang endofit yang diisolasi dari tanaman *Cibotium barometz*, pada kultur fermentasi cair mampu menghasilkan 8-HODE. Glukosa, monosodium glutamat dan minyak jagung adalah komponen media fermentasi yang menunjukkan pengaruh nyata terhadap produksi 8-HODE oleh *C. lunata* BioMCC FE-00283. Dalam tulisan ini dilaporkan peningkatan produksi 8-HODE dengan menambahkan ekstrak kentang pada komposisi media hasil optimasi sebelumnya. Empat komponen media yang terdiri dari ekstrak kentang, glukosa, monosodium glutamat dan minyak jagung dioptimasi untuk produksi 8-HODE menggunakan Response Surface Methodology (RSM). Rancangan *full factorial Central Composite Design (CCD)* digunakan dalam percobaan ini agar dapat menjelaskan interaksi antar komponen media fermentasi. Hasil optimasi menunjukkan bahwa produksi 8-HODE maksimal yang diprediksi oleh model kuadratik adalah 16,46 mg/L. Hasil optimal tersebut dicapai pada komposisi media yang terdiri dari ekstrak kentang 36,50%; glukosa 3,60 g/L; monosodium glutamat 15,92 g/L dan minyak jagung 0,96 ml/L. Verifikasi komposisi media hasil optimasi menghasilkan 8-HODE sebesar $16,189 \pm 0,526$ mg/L. Hasil optimasi dengan menambahkan ekstrak kentang dalam optimasi media fermentasi ternyata meningkatkan konsentrasi 8-HODE tiga kali lipat dibandingkan dengan hasil optimasi dengan 3 peubah.

Kata kunci: ekstrak kentang, optimasi, RSM, asam hidroksi oktadekadienoat, kapang endofit, *Curvularia lunata*.

Abstract: 8-Hydroxy 9,12-octadecadienoic acid (8-HODE) is an oxidized aliphatic fatty acid belongs to the group of oxylipins, which shows bioactivity. It was reported previously that *Curvularia lunata* BioMCC FE-00283, an endophytic fungi from *Cibotium barometz* be able to produce 8-HODE by submerged fermentation. Glucose, monosodium glutamate, corn oil are media components which showed significant effect toward HODE production by *C. lunata* BioMCC FE-00283. In this study we reported the enhancement of 8-HODE production by adding potato extract to previous medium. These four medium components, which were potato extract, glucose, monosodium glutamate and corn oil, were optimized for 8-HODE production by Response Surface Methodology (RSM). A full factorial Central Composite Design (CCD) was used to explain the interaction effect between media

* Penulis korespondensi, Hp. 08121067825
e-mail: wahono_ffup@ffup.ac.id

components. Maximum HODE production predicted by the quadratic model was 16.46 mg/L where media composition consists of 36.50% potato extract, 3.60 g/L glucose, 15.92 g/L monosodium glutamate and 0.96 ml/L corn oil. Experimentally verification using these medium composition production of 8-HODE reached 16.189 ± 0.526 mg/L. This optimization, which was added potato extract as variabel in medium optimization was enhanced 3 times fold of 8-HODE concentration compare to the 3 variabel optimization.

Keywords: potato extract, optimization, response surface methodology, hydroxy octadecadienoic acid, endophytic fungi, *Curvularia lunata*.

PENDAHULUAN

8-HYDROXY- 9,12-octadecadienoic acid (8-HODE) adalah salah satu senyawa yang termasuk dalam kelompok hidroksi asam lemak atau yang dikenal luas sebagai oksilipin. 8-HODE adalah salah satu oksilipin yang bersifat bioaktif. Senyawa 8-HODE pertama kali dilaporkan dihasilkan oleh fungi Basidiomycetes *Laetisiria arvalis* yang biasa digunakan sebagai pengendali hayati terhadap patogen tanaman *Rhizoctonia solani* dan *Phoma betae*⁽¹⁾. 8-HODE yang dihasilkan oleh kapang endofit *Curvularia lunata* dilaporkan mampu menghambat proliferasi sel MCF-7⁽²⁾ dan antioksidan⁽³⁾.

8-HODE dapat diproduksi dengan fermentasi kultur terendam oleh kapang *C. lunata*. Optimasi komposisi beberapa media pokok, seperti sumber karbon, sumber nitrogen dan *inducer* sudah dilaporkan sebelumnya oleh Prabandari dkk, 2013⁽³⁾ akan tetapi optimasi lanjutan masih diperlukan.

Ekstrak kentang merupakan sumber karbon dan sumber asam amino dalam media fermentasi. Widayanti⁽²⁾ melaporkan bahwa varietas ekstrak kentang memberikan pengaruh nyata terhadap produksi 8-HODE oleh kapang *C. lunata*. Hal tersebut dikarenakan perbedaan total gula dan komposisi asam amino dari masing-masing varietas.

Dalam makalah ini dilaporkan hasil optimasi komposisi ekstrak kentang, glukosa, monosodium glutamat dan minyak jagung dalam media fermentasi *C. lunata* untuk menghasilkan 8-HODE, melengkapi optimasi komposisi media fermentasi yang telah dilaporkan sebelumnya. Data percobaan diperoleh dari fermentasi pada skala kultur kocok yang dirancang dengan rancangan *Central Composite Design* (CCD), sedangkan optimasi komposisi media akan dilakukan metode respon permukaan. Optimasi dilakukan untuk mendapatkan komposisi yang dapat menghasilkan 8-HODE tertinggi.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Kapang *C. lunata* BioMCC FE-00283 adalah koleksi dari Balai Pengkajian Bioteknologi

BPPT. Kapang diisolasi dari tanaman obat *Cibotium barometz* yang diambil dari Lombok Timur, Nusa Tenggara Barat, dan diisolasi dengan metode sterilisasi permukaan mengikuti metode Tomita⁽⁴⁾. Kapang yang sudah murni dan diidentifikasi kemudian disimpan dalam gliserol 20% pada suhu -80 °C. Kapang diidentifikasi secara morfologi dengan menggunakan mikroskop Olympus CX 51. Morfologi yang diamati dibandingkan dengan definisi morfologi dalam *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*⁽⁵⁾.

METODE. Fermentasi. Media fermentasi terdiri dari medium basal 1, basal 2 dan medium untuk optimasi. Medium basal 1 merupakan modifikasi dari medium *potato dextrose yeast extract* (PDY) yang mengandung glukosa (10 g/L), monosodium glutamat (4 g/L), minyak jagung (5 g/L) dan ekstrak kentang (200 g/L). Medium basal 2 merupakan medium hasil optimasi pertama⁽³⁾. Medium optimasi merupakan modifikasi dari medium optimasi pertama dengan menambahkan ekstrak kentang sebagai peubah. Medium ini terdiri dari ekstrak kentang, glukosa, monosodium glutamat dan minyak jagung sesuai dengan rancangan CCD.

Proses fermentasi dilakukan dalam 2 tahap, yaitu vegetasi dan fermentasi. Pada tahap vegetasi, 1 potong kultur jamur (ukuran 0,5 x 0,5 cm) dalam media *potato dextrose agar* (PDA) diinokulasikan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media PDY sebagai medium vegetasi. Kultur diinkubasi dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 28 °C selama 2 hari. Sebanyak 5 mL dari miselia yang sudah tumbuh diinokulasikan ke dalam labu Erlenmeyer 250ml yang mengandung media optimasi. Kultur diinkubasi dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 28 °C selama 10 hari.

Ekstraksi dan Analisis HODE. Semua kaldu fermentasi diekstrak dengan etil asetat dengan perbandingan volume 1:1. Etil asetat adalah organik terbaik untuk ekstraksi HODE (data tidak dipublikasikan). Fase organik dipisahkan dari fase air, diukur volumenya dengan volume akhir 100 mL dan dipekatkan menggunakan sentrifuga konsentrator disertai pengurangan tekanan. Ekstrak kering kemudian dilarutkan kembali menggunakan metanol

dengan *grade high pressure liquid chromatography* (HPLC) dengan volume akhir 1 mL. Ekstrak-ekstrak tersebut kemudian dianalisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) Waters menggunakan kolom C18 (Puresil, 150 x 4,6 mm) dan dielusi secara gradien dengan asetonitril air dari 15% sampai 100% selama 33 menit. Puncak HODE mempunyai waktu retensi 14,6-14,8 menit. Data luas kromatogram HODE akan digunakan sebagai input optimasi menggunakan metode respon permukaan.

Rancangan Percobaan. Untuk mendapatkan data luas area kromatogram HODE pada berbagai perbandingan komposisi media dilakukan dengan

Tabel 1. Rancangan percobaan *central composite design*.

No.	Variabel terkode			
	X1 Ekstrak kentang (g/L)	X2 Glukosa (g/L)	X3 MSG (g/L)	X4 Minyak jagung (ml/L)
1.	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00
2.	1,00	-1,00	-1,00	-1,00
3.	-1,00	1,00	-1,00	-1,00
4.	1,00	1,00	-1,00	-1,00
5.	-1,00	-1,00	1,00	-1,00
6.	1,00	-1,00	1,00	-1,00
7.	-1,00	1,00	1,00	-1,00
8.	1,00	1,00	1,00	-1,00
9.	-1,00	-1,00	-1,00	1,00
10.	1,00	-1,00	-1,00	1,00
11.	-1,00	1,00	-1,00	1,00
12.	1,00	1,00	-1,00	1,00
13.	-1,00	-1,00	1,00	1,00
14.	1,00	-1,00	1,00	1,00
15.	-1,00	1,00	1,00	1,00
16.	1,00	1,00	1,00	1,00
17.	-2,00	0,00	0,00	0,00
18.	2,00	0,00	0,00	0,00
19.	0,00	-2,00	0,00	0,00
20.	0,00	2,00	0,00	0,00
21.	0,00	0,00	-2,00	0,00
22.	0,00	0,00	2,00	0,00
23.	0,00	0,00	0,00	-2,00
24.	0,00	0,00	0,00	2,00
25.	0,00	0,00	0,00	0,00

Keterangan: X1 = ekstrak kentang, X2 = glukosa, X3 = monosodium glutamat, X4 = minyak jagung.

menggunakan metode CCD. Percobaan ini akan terdiri dari 16 satuan percobaan untuk rancangan faktorial yang terdiri dari 4 peubah dan diperbesar dengan 8 *starting point* dan 1 *center point*. Rancangan percobaan dengan tiga level faktor yang dikodekan dari selang konsentrasi untuk tiap faktor disajikan pada Tabel 1, sedangkan level konsentrasi tiap faktor sebelum dikodekan disajikan pada Tabel 2. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui respon dari setiap komposisi faktor yang dicobakan.

Tabel 2. Tingkat konsentrasi setiap faktor pada *central composite design*.

Faktor	Kode	Tingkat				
		-2	-1	0	1	2
Ekstrak kentang (g/L)	X1	22	27	32	37	42
Glukosa (g/L)	X2	0	3	6	9	12
Monosodium glutamat (g/L)	X3	7	11	15	19	23
Minyak jagung (ml/L)	X4	0,5	0,75	1	1,25	1,5

Keterangan: X1 = ekstrak kentang, X2 = glukosa, X3 = monosodium glutamat, X4 = minyak jagung.

Analisis Data dan Optimasi Media. Untuk membuat model persamaan yang menghubungkan antara respon ([8-HODE]) dengan peubah (komposisi media). Data yang diperoleh dari hasil percobaan diolah dengan menggunakan perangkat lunak *Design Expert* versi 7. Model yang dihasilkan dari pengolahan data percobaan akan dioptimasi dengan menggunakan metode permukaan respon dengan perangkat lunak *Design Expert* versi 7. Hasil optimasi ini akan diverifikasi ulang dan dibandingkan dengan media basal 1 maupun 2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode respon permukaan adalah salah satu metode empiris yang dapat digunakan untuk mengevaluasi hubungan antara suatu kelompok peubah dari suatu percobaan dan respon yang berhasil diukur berdasarkan suatu kriteria tertentu⁽⁶⁾. Pengaruh peubah yang akan diuji terhadap proses perlu diketahui terlebih dahulu untuk mendapatkan model yang lebih mendekati kenyataan.

Prabandari (2012)⁽⁷⁾ telah melaporkan bahwa glukosa dan monosodium glutamat merupakan sumber karbon dan sumber nitrogen yang mempunyai pengaruh nyata terhadap produksi 8-HODE oleh *C. lunata*, sedangkan minyak jagung adalah *inducer* yang mempunyai pengaruh nyata terhadap produksi 8-HODE. Sedangkan Widayanti dalam publikasinya

melaporkan bahwa ekstrak kentang juga memberikan pengaruh nyata terhadap produksi 8-HODE⁽²⁾. Keempat peubah tersebut dioptimasi komposisinya untuk produksi 8-HODE menggunakan CCD dan metode respon permukaan.

Sebanyak 25 unit percobaan, yang terdiri dari 24 (16) unit percobaan faktorial, 6 *starting point*, dan 1 *center point* telah dicoba dan diukur responnya (Tabel 3). Hasil pengolahan data dengan perangkat lunak *design expert* menunjukkan bahwa model linier dan kuadratik secara nyata dapat menjelaskan data yang diperoleh (*p-value* <0,01) pada tingkat kepercayaan 99% (Tabel 4).

Tabel 5 menunjukkan uji ketidakcocokan model. Model linier dan 2FI atau interaksi dua faktor

Tabel 3. Konsentrasi 8-HODE hasil optimasi.

No.	Level faktor yang dikodekan				[8-HODE] (rerata)
	X1	X2	X3	X4	
1.	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	415,543
2.	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	553,643
3.	-1,00	1,00	-1,00	-1,00	36,187
4.	1,00	1,00	-1,00	-1,00	45,400
5.	-1,00	-1,00	1,00	-1,00	266,300
6.	1,00	-1,00	1,00	-1,00	719,400
7.	-1,00	1,00	1,00	-1,00	16,620
8.	1,00	1,00	1,00	-1,00	280,260
9.	-1,00	-1,00	-1,00	1,00	416,667
10.	1,00	-1,00	-1,00	1,00	640,423
11.	-1,00	1,00	-1,00	1,00	36,947
12.	1,00	1,00	-1,00	1,00	183,793
13.	-1,00	-1,00	1,00	1,00	407,020
14.	1,00	-1,00	1,00	1,00	711,737
15.	-1,00	1,00	1,00	1,00	32,267
16.	1,00	1,00	1,00	1,00	134,457
17.	-2,00	0,00	0,00	0,00	30,060
18.	2,00	0,00	0,00	0,00	641,170
19.	0,00	-2,00	0,00	0,00	644,630
20.	0,00	2,00	0,00	0,00	41,407
21.	0,00	0,00	-2,00	0,00	36,167
22.	0,00	0,00	2,00	0,00	371,087
23.	0,00	0,00	0,00	-2,00	266,533
24.	0,00	0,00	0,00	2,00	292,113
25.	0,00	0,00	0,00	0,00	621,092

Keterangan: X1 = ekstrak kentang, X2 = glukosa, X3 = monosodium glutamat, X4 = minyak jagung.

Tabel 4. Hasil uji ANOVA terhadap model.

Sumber	Jumlah kuadrat	db	Rata-rata kuadrat	Nilai F	Nilai P Prob>F
<i>Mean</i>	3500,09	1	3500,09		
<i>Linear</i>	1572,89	4	393,22	41,89	<0,0001
<i>Quadratic</i>	252,16	4	63,04	10,81	<0,0001
<i>Cubic</i>	150,93	8	18,87	4,79	0,0002
<i>Residual</i>	216,56	55	3,94		
<i>Total</i>	5758,23	78	73,82		

mempunyai nilai *p* <0,0001 yakni lebih kecil dari 0,05 atau 5%. Hal tersebut menunjukkan bahwa kedua model tersebut bersifat signifikan terhadap ketidaktepatan model, sedangkan model kuadratik memiliki nilai *p* sebesar 0,0007 atau 0,07%, namun model kuadratik yang telah disarankan oleh program. Model kubik memiliki nilai *p* 0,7629 atau 76,29% lebih besar dari 5%, yang berarti bahwa model tidak signifikan terhadap ketidaktepatan model. Meskipun demikian, model kubik tidak disarankan oleh program. Secara keseluruhan, berdasarkan analisis *lack of fit* tes model kuadratik disarankan dipilih untuk menggambarkan respon produksi 8-HODE oleh *C. lunata* BioMCC FE-00283.

Tabel 5. Hasil uji ketidakcocokan model.

Sumber	Jumlah kuadrat	db	Rata-rata kuadrat	Nilai F	Nilai P Prob>F
<i>Linear</i>	470,89	20	23,54	5,82	<0,0001
2FI	405,29	14	28,95	7,16	<0,0001
<i>Quadratic</i>	153,13	10	15,31	3,79	0,0007
<i>Cubic</i>	2,20	2	1,10	0,27	0,7629
<i>Pure error</i>	214,36	53	4,04		

Pemilihan model respon dengan analisis *summary statistics* model ditinjau berdasarkan nilai standar deviasi dan nilai R², model terbaik difokuskan pada nilai *adjusted* R² dan nilai *predicted* R² yang paling maksimal⁽¹⁰⁾. Perhitungan pemilihan model statistik respon *yield* fukoidan berdasarkan model *summary statistics*.

Tabel 6 menunjukkan bahwa model kuadratik memiliki standard deviasi yang lebih rendah dibandingkan dengan model linear dan 2FI, yaitu 2,42. Sedangkan nilai R² model kuadratik lebih tinggi dibandingkan dengan model linear dan 2FI, begitu pula dengan nilai *adjusted* R² dan *predicted* R². Nilai *adjusted* R² 0,8011 menunjukkan bahwa variabel konsentrasi ekstrak kentang, glukosa, monosodium

Tabel 6. Hasil analisis model *summary statistics* dengan respon produksi 8-HODE oleh *C. lunata* BIOMCC Fe-00283.

Sumber	SD	R ²	Adjusted R ²	Predicted R ²	PRESS
Linear	3,06	0,6965	0,6799	0,6622	762,85
2FI	3,04	0,7256	0,6846	0,6513	787,41
Quadratic	2,42	0,8373	0,8011	0,7499	564,77
Cubic	1,98	0,9041	0,8657	0,8054	439,47

glutamat dan minyak jagung berpengaruh terhadap keragaman respon konsentrasi 8-HODE sebesar 80,11%, sedangkan sisanya 19,89% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak dijelaskan dalam variabel penelitian. Model kubik juga memiliki nilai R² yang lebih besar dibandingkan dengan model kuadratik, namun model kubik tidak dipilih oleh program sehingga tidak dapat dijelaskan.

Selain nilai *adjusted R²* dan *predicted R²*, analisis model *summary statistics* juga memperhitungkan nilai PRESS (*Prediction Error Sum of Squares*) yang paling kecil⁽⁶⁾. Pada Tabel 6, nilai PRESS model kuadratik lebih rendah daripada model linear maupun 2FI yaitu sebesar 564,77. Nilai PRESS pada model linear adalah 762,85 dan pada model 2FI sebesar 787,41. Berdasarkan analisis model *summary statistics* dapat disimpulkan bahwa model yang tepat dipilih oleh program (*suggested*) untuk menentukan respon konsentrasi 8-HODE yang optimum adalah model kuadratik. Model kubik dinyatakan *aliased* atau tidak disarankan oleh program *design expert* sehingga tidak digunakan untuk menentukan respon.

Berdasarkan ketiga metode evaluasi kualitas model (*Sequential Model Sum of Squares*, *Lack of Fit Test* dan *Model Summary Statistics*) dapat disimpulkan bahwa prediksi model kuadratik adalah tepat. Model kuadratik merupakan model statistik yang tepat dipilih (*suggested*) oleh perangkat lunak *design expert* untuk menjelaskan hubungan antara empat peubah, yaitu: ekstrak kentang, glukosa, monosodium glutamat dan minyak jagung.

Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) dengan menggunakan program *design expert 7* dapat dilihat pada Tabel 7. Hasil sidik ragam tersebut menunjukkan bahwa model kuadratik secara nyata ($p < 0,0001$) dapat menjelaskan data yang ada. Apabila nilai mungkin $> F$ kurang dari 0,0500 maka mengindikasikan bahwa model signifikan.

Pada Tabel 7 diketahui bahwa A (ekstrak kentang), B (glukosa), C (monosodium glutamat), AC (interaksi antara ekstrak kentang dan monosodium glutamat), A² (kuadrat dari ekstrak kentang), B² (kuadrat dari glukosa), C² (kuadrat dari monosodium glutamat),

Tabel 7. Hasil analisis ANOVA terhadap model respon permukaan kuadratik.

Sumber	Jumlah kuadrat	db	Rata-rata Kuadrat	Nilai F	Nilai P mungkin >F
Model	1890,65	14	135,05	23,15	< 0,0001
A – Ekstrak kentang	446,83	1	446,83	76,60	< 0,0001
B- Glukosa	1089,66	1	1089,66	186,81	< 0,0001
C- MSG	35,87	1	35,87	6,15	0,0158
D- Minyak jagung	0,54	1	0,54	0,092	0,7630
AB	13,49	1	13,49	2,31	0,1333
AC	42,36	1	42,36	7,26	0,0090
AD	0,44	1	0,44	0,075	0,7856
BC	6,30	1	6,30	1,08	0,3025
BD	1,01	1	1,01	0,17	0,6783
CD	2,00	1	2,00	0,34	0,5607
A ²	75,11	1	75,11	12,88	0,0007
B ²	92,48	1	92,48	15,85	0,0002
C ²	214,92	1	214,92	36,84	< 0,0001
D ²	142,12	1	142,12	24,36	< 0,0001
Sisa	367,48	63	5,83		
Ketidaktepatan	153,13	10	15,31	3,79	0,0007
Galat	214,36	53	4,04		
Total	2258,14	77			

dan D² (kuadrat dari minyak jagung) berpengaruh secara signifikan terhadap model. Uji *Lack of Fit* atau uji ketidaktepatan menunjukkan hasil yang signifikan dimana nilai F sebesar 3,79 dan p sebesar 0,0007, berarti ketidaktepatan model tidak signifikan terhadap galat murni, tetapi persamaan model telah sesuai.

Berdasarkan hasil analisis ANOVA dan perkiraan pengaruh peubah (Tabel 8) maka model yang dapat menjelaskan hubungan antara pengaruh komposisi media terhadap produksi senyawa 8-HODE adalah sebagai berikut: $Y = 12,42 + 2,49A - 3,89B + 0,71 + 0,94AC - 1,2A^2 - 1,33B^2 - 2,03C^2 - 1,65D^2$. Dimana Y = konsentrasi 8-HODE, A = konsentrasi ekstrak kentang, B = konsentrasi glukosa, C = konsentrasi monosodium glutamat dan D = konsentrasi minyak jagung.

Model yang dihasilkan dari pengolahan data percobaan menunjukkan bahwa hanya ekstrak kentang, glukosa, MSG, interaksi ekstrak kentang-MSG dan kuadrat dari semua peubah yang mempunyai pengaruh nyata terhadap produksi 8-HODE. Hasil ini

Tabel 8. Estimasi pengaruh variabel dalam model.

Peubah	Perkiraan koefisien
Intersep	12,42
A- Ekstrak kentang	2,49
B- Glukosa	-3,89
C- Monosodium glutamat	0,71
D- Minyak jagung	0,086
AB	-0,53
AC	0,94
AD	-0,095
BC	0,36
BD	-0,15
CD	-0,20
A ²	-1,20
B ²	-1,33
C ²	-2,03
D ²	-1,65

menunjukkan adanya perubahan pengaruh peubah MSG, yang mana sebelum penambahan ekstrak kentang sebagai peubah MSG tidak memberikan pengaruh nyata terhadap produksi 8-HODE⁽³⁾.

Ekstrak kentang selain mengandung glukosa juga mengandung 18 jenis asam amino esensial (Tabel 9). Tidak seperti glukosa yang berpengaruh negatif terhadap produksi 8-HODE, ekstrak kentang di dalam media mampu meningkatkan produksi 8-HODE. Berdasarkan laporan Widayanti *et al.*⁽²⁾, jenis ekstrak kentang yang menghasilkan 8-HODE tertinggi adalah ekstrak kentang varietas Atlantis yang kandungan glukosanya paling rendah dibanding varietas lain.

Dari kedua hal tersebut dapat diduga bahwa kandungan asam amino di dalam ekstrak kentang yang lebih berperan dalam peningkatan produksi 8-HODE oleh kapang *C. lunata*. Oleh sebab itu, masih diperlukan penelitian yang lebih dalam untuk mengetahui jenis asam amino yang paling berperan dalam meningkatkan produksi 8-HODE dan interaksinya dengan monosodium glutamat dalam meningkatkan produksi 8-HODE.

Presentasi grafis dari hasil optimasi yang merupakan representasi hubungan antara respon dan peubah menunjukkan sebagian interaksi mempunyai titik maksimum 8-HODE yang nyata dan sebagian lagi titik optimumnya belum tercapai (Gambar 1). Bas dan Boyaci (2007)⁽⁸⁾ melaporkan bahwa plot interaksi dapat memberikan informasi yang sangat berharga tentang model yang menghubungkan peubah dengan respon. Plot yang tidak mempunyai

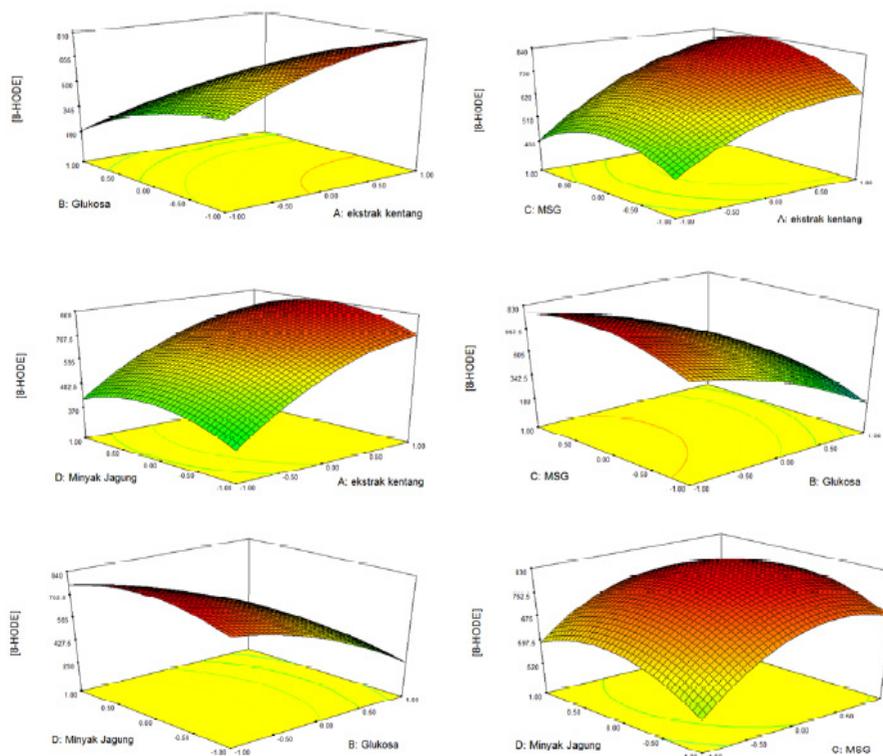
Tabel 9. Komposisi asam amino dalam ekstrak kentang varietas Atlantik.

No.	Asam amino	Kadar (mg/L)
1.	Isoleusin	994,7596
2.	Leusin	501,8696
3.	Lisin	362,1313
4.	Metionin	99,75822
5.	Fenilalanin	802,6071
6.	Treonin	533,3929
7.	Triptofan	216,2164
8.	Valin	763,4873
9.	Arginin	299,7261
10.	Histidin	148,5309
11.	Alanin	161,0804
12.	Asparigin	2161,644
13.	Aspartat	523,8057
14.	Glutamat	150,5954
15.	Glutamin	1458,676
16.	Prolin	411,6081
17.	Serin	52,62819
18.	Tirosin	646,3408

nilai optimum menunjukkan bahwa model cocok tetapi tidak merepresentasikan keadaan sistem yang sesungguhnya. Sebaliknya, apabila plot kontur interaksi dari dua peubah terhadap respon berbentuk lingkaran atau elips dan titik maksimum berada di tengahnya menunjukkan bahwa model hasil optimasi dapat menggambarkan secara benar hubungan antara peubah dan respon. Dari grafik plot interaksi antar peubah tersebut menunjukkan bahwa persamaan hasil optimasi telah dapat menggambarkan secara benar hubungan peubah dengan respon 8-HODE. Dengan demikian, optimasi dapat dilanjutkan untuk mendapatkan komposisi media terbaik.

Solusi titik optimum berdasarkan hasil analisis oleh program *Design Expert 7*. Solusi ini didasarkan pada satu respon yaitu konsentrasi senyawa 8-HODE yang optimum. Adapun solusi titik optimum pada masing-masing titik peubah disajikan dalam Tabel 10.

Analisis kromatografi cair kinerja tinggi fraksi-fraksi pada Tabel 10 juga menunjukkan bahwa masing-masing peubah, konsentrasi ekstrak kentang, glukosa, monosodium glutamat dan minyak jagung berada dalam kisaran batas bawah (-1) dan batas atas (+1). Berdasarkan hasil analisis dengan *design expert*, produksi senyawa 8-HODE oleh *C. lunata* BioMCC FE-00283 optimum sebesar 16,46 mg/L dengan



Gambar 1. Plot interaksi antar peubah dan pengaruhnya terhadap produksi 8-HODE oleh *C. lunata*.

Tabel 10. Solusi titik optimum terpilih berdasarkan program *Design Expert 7*.

Keterangan	Faktor				R ²	Respon [8-HODE] mg/L
	Ekstrak kentang (%)	Glukosa (g/L)	MSG (g/L)	Minyak jagung (mL/L)		
Kode	0,90	-0,80	0,23	-0,17	1,0	16,46
Aktual	36,50	3,60	15,92	0,96		

komposisi media sebagai berikut: ekstrak kentang dengan konsentrasi 36,5%, glukosa sebanyak 3,6 g/L, MSG 15,92 g/L dan minyak jagung sebanyak 0,9575 ml/L. Hasil pemilihan titik optimum oleh perangkat lunak ini selanjutnya akan divalidasi kesesuaiannya dengan hasil percobaan.

Validasi titik optimum bertujuan untuk membuktikan solusi titik optimum dari masing-masing variabel bebas berdasarkan program *Design Expert 7*. Validasi dilakukan dengan membandingkan hasil dari eksperimen sebenarnya terhadap hasil optimasi. Pada penelitian ini, hasil eksperimen tidak hanya dibandingkan dengan nilai solusi program namun juga dibandingkan dengan hasil optimasi dengan 3 peubah (konsentrasi glukosa, monosodium glutamat, dan minyak jagung)⁽³⁾ serta dibandingkan pula dengan media basal yaitu media PDY.

Hasil validasi pada titik optimum menghasilkan konsentrasi 8-HODE sebesar 16,189±0,526 mg/L, sedangkan prediksi dari program menunjukkan nilai yang lebih besar yaitu 16,4664 mg/L. Konsentrasi hasil

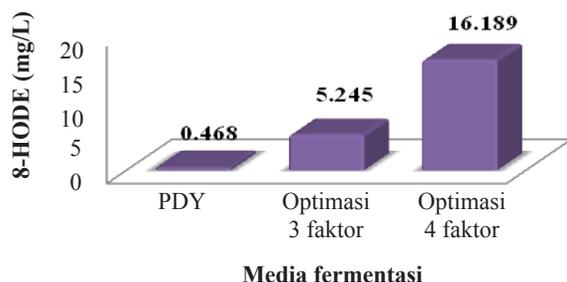
eksperimen ini mencapai 98,32% dari hasil prediksi oleh persamaan optimasi. Hasil ini menunjukkan bahwa optimasi dengan simulasi berhasil dilakukan dengan baik. Weuster-Botz (2000)⁽⁹⁾ menyatakan bahwa apabila hasil eksperimen validasi dan nilai prediksi dari program memiliki tingkat kesalahan kurang dari 5% membuktikan bahwa nilai variabel titik optimum tersebut sesuai. Pada penelitian ini ketidaksesuaian hasil eksperimen dengan hasil optimasi dengan simulasi adalah sebesar 1,68%. Dengan demikian, titik optimum tersebut telah sesuai.

Disamping sesuai dengan prediksi program, hasil optimasi tersebut juga mampu menghasilkan senyawa 8-HODE 3 kali dibandingkan dengan hasil optimasi sebelumnya dan 30 kali lipat dibandingkan media basal PDY. Hasil dari optimasi dibandingkan dengan hasil fermentasi menggunakan formulasi optimasi oleh penelitian sebelumnya serta hasil fermentasi menggunakan media PDY. Komposisi media optimasi yang telah dilakukan oleh Prabandari 2012⁽¹⁰⁾ adalah 20% ekstrak kentang, 5,87 g/L glukosa, 11,05 g/L





monosodium glutamat, dan 1ml/L minyak jagung. Hasil perbandingan tersebut disajikan pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Perbandingan hasil produksi 8-HODE oleh *C. lunata* dengan 3 variasi komposisi media.

SIMPULAN

8-Hydroxy-9,12-octadecadienoic acid (8-HODE) maksimum yang dapat diproduksi oleh kapang endofit *Curvularia lunata* BIOMCC Fe-00283 adalah 16,189 ± 0,526 mg/L pada komposisi media ekstrak kentang 36,5%, glukosa 3,6 g/L, monosodium glutamat 15,92 g/L dan minyak jagung sebanyak 0,9575 ml/L.

DAFTAR PUSTAKA

1. Prabandari EE, Irawadi TT, Sumaryono W, Syamsu K. Citotoxic activity of active fraction and pure compound produced by endophytic fungi from Lombok Timur medicinal plants against breast cancer cell line MCF-7. *J. Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2012. 10(1):24-29.
2. Widayanti VT, Prabandari EE. Pengaruh varietas ekstrak kentang terhadap produksi 8-HODE oleh kapang endofit *Curvularia lunata* BioMCC FE-00283 (dalam proses publikasi).
3. Prabandari EE, Irawadi TT, Sumaryono W, Syamsu K. Optimization of hydroxy octadecadienoic acid (HODE) produce by endophytic fungi *Curvularia lunata* BioMCC FE-00283 using Response Surface Methodology. *J. Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2011.9 (2).
4. Tomita F. Endophytes in Southeast Asia and Japan: their taxonomic and potential applications. *Fungal Diversity*. 2003. 14:187-204.
5. Watanabe. Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2002. 237.
6. Bezerra MA, Santelli RE, Oliveiraa EP, Villar LS, Escalera LA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. 2008. 76:965-77.
7. Prabandari EE, Irawadi TT, Sumaryono W, Syamsu K. Selection of carbon and nitrogen sources for 8-hydroxy-9,12-octadecadienoic acid production using endophytic fungi *Curvularia lunata* BioMCC FE-00283. *Microbiology Indonesia*. 2011. 5(4):187-91.
8. Bas D, Boyaci IH. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *J. Food Engineer*. 2007.78:836-45.
9. Weuster-Botz D. Experimental design for fermentation media development: Statistical design or global random search. *J. Biosci. Bioeng*. 2000.90(5):473-83.
10. Prabandari EE. Isolasi, karakterisasi dan optimasi medium produksi senyawa aktif kapang endofit untuk menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7 secara *in vitro* [Disertasi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2012.

