

Optimasi Media Kultivasi Senyawa Aktif *Penicillium lagenae* sebagai Antifungi Patogen *Phellinus lamaoensis* dengan Menggunakan Respon *Surface Methodology*

Optimization of Penicillium lagenae Medium Cultivation on Antifungal Pathogen of Phellinus lamaoensis using Response Surface Methodology

Rofiq Sunaryanto^{1*)}, Diana Nurani¹, Asep Riswoko¹, Siti Nabilah², Khaswar Syamsu³

¹Pusat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT),
Tangerang Selatan, Banten 15314

²Program Studi Bioteknologi, Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor,
Bogor 16680

³Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

*)Penulis untuk korespondensi: rofiq.sunaryanto@bppt.go.id

Sitasi: Sunaryanto R, Nurani D, Riswoko A, Nabilah S, Syamsu K. 2019. Optimasi media kultivasi senyawa aktif *penicillium lagenae* sebagai antifungi patogen *phellinus lamaoensis* dengan menggunakan respon *surface methodology*. In: Herlinda S et al. (Eds.), Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal 2018, Palembang 18-19 Oktober 2018, pp. 410-420. Palembang: Unsri Press.

ABSTRACT

Phellinus lamaoensis (Murr.) Hein is fungal pathogen that can cause brown root rot disease in cocoa, tea, rubber, and coffee plants. Endophytic fungi, *Penicillium lagenae*, isolated from bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.), medicinal plant, is able to inhibit the growth of pathogenic, *P. lamaoensis*. The effect of carbon source, nitrogen source, and mineral solution was studied. Lactose, yeast extract, and mineral solution were media components which showed significant effect toward production of *P. lagenae* active compound. Composition optimization of these three medium components was done by response surface methodology (RSM). The Optimal response region of the significant factor was predicted by using a second order polynomial model with statistical design, central composite design (CCD). Highest production of *P. lagenae* active compound by quadratic model was predicted to be 69.233% with medium composition 44.77 g L⁻¹ lactose, 13.02 g L⁻¹ yeast extract, and 15.95 mL L⁻¹ mineral solution. Verification value in laboratory is 58.365%, lower 15.7% than its prediction. Optimization increase *P. lagenae* active compound 9 fold compared to unoptimize media.

Keywords: active compound; optimization; *Penicillium lagenae*; RSM

ABSTRAK

Phellinus lamaoensis (Murr.) Hein merupakan jamur patogen yang dapat menyebabkan penyakit akar cokelat pada tanaman kakao, teh, karet, dan kopi. Fungi endofit *Penicillium lagenae* yang diisolasi dari tanaman obat bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) diketahui mampu menghambat pertumbuhan patogen *P. lamaoensis*. Dalam penelitian ini dipelajari pengaruh sumber karbon, sumber nitrogen, dan mineral terhadap produksi senyawa aktif *P. lagenae*. Laktosa, yeast extract, dan mineral adalah

komponen media yang menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap produksi senyawa aktif *P. lagena*. Optimasi ketiga komponen media tersebut dilakukan dengan response surface methodology (RSM). Optimasi terhadap faktor yang signifikan diprediksi dengan model ordo dua melalui rancangan statistika central composite design (CCD). Produksi senyawa aktif *P. lagena* tertinggi diprediksi oleh model kuadratik mencapai 32269366.338 dengan komposisi media 44.77 g L⁻¹ laktosa, 13.02 g L⁻¹ yeast extract, dan 15.95 mL L⁻¹. Hasil verifikasi senyawa aktif di laboratorium sebesar 27203907.310. Hasil ini lebih rendah 15.7% dibandingkan prediksinya. Hasil optimasi meningkatkan senyawa aktif *P. lagena* 9 kali lipat dibandingkan sebelum optimasi.

Kata kunci: optimasi; *Penicillium lagena*; RSM; senyawa aktif

PENDAHULUAN

Phellinus lamaroensis (Murr.) Hein sinonimnya *Fomes noxius* Corner atau *Fomes lamaroensis* Murr. menyebabkan penyakit akar cokelat pada tanaman kakao, teh, karet, dan kopi (Semangun 2000). Serangan penyakit akar cokelat mampu menurunkan 50 persen populasi perkebunan kakao (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia 2010). *P. lamaroensis* menyerang kakao di beberapa negara, yaitu Indonesia, Ghana, Nigeria, Sri Lanka, Malaysia, Papua New Guinea, dan Samoa. Penyebaran penyakit melalui kontak langsung antara akar sehat dengan akar sakit. Pohon yang terinfeksi akan mati setelah enam bulan infeksi (Wood & Lass 1989).

Penyebaran penyakit yang lambat dan infeksi patogen yang tidak diketahui sejak awal menyebabkan penanggulangan penyakit akar cokelat terlambat. Tanaman yang sudah mati akibat penyakit akar cokelat dibongkar dan dibakar, kemudian lubang bekas tanamannya diberi 100-600 gram belerang dan lahan ini dapat digunakan kembali satu tahun kemudian (Nazaruddin & Paimin 1992; Eden 1965). Gas SO₂ atau SO₃ dari belerang dapat bereaksi dengan uap air di udara membentuk H₂SO₃ atau H₂SO₄ yang dapat menyebabkan hujan asam (Triharso 1994). Hujan asam menyebabkan kerusakan hutan dan mengikis lapisan tanah yang subur. Pengendalian penyakit menggunakan bahan kimia kurang efektif dan dapat berpengaruh negatif bagi lingkungan dan kesehatan manusia (Mejía et al 2008).

Pengendalian penyakit dapat dilakukan dengan teknik pengendalian hayati, yaitu dengan menggunakan fungi endofit. Endofit adalah mikroorganisme (umumnya fungi dan bakteri) yang berada hampir disemua jaringan tanaman namun tidak menyebabkan kerugian atau menginfeksi tanaman. Beberapa endofit menghasilkan senyawa aktif dalam metabolit sekundernya yang memiliki kemampuan sebagai antikanker, antioksidan, antivirus (Selim et al 2012), antibakteri dan antifungi (Tran et al 2010). Fungi endofit *P. lagena* yang diisolasi dari tanaman obat bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) mampu menghambat pertumbuhan patogen *P. lamaroensis* (Kaswati 2013). Bandotan merupakan tumbuhan terna semusim yang termasuk famili Asteraceae (Dalimartha 2006).

Tanaman obat mengalami kelangkaan disebabkan oleh daya regenerasi yang lambat dan peningkatan jumlah populasi manusia yang mengakibatkan kerusakan lingkungan dan penurunan keanekaragaman hayati (Wilson 1988). Keberadaan tanaman obat yang semakin langka menjadi kendala untuk isolasi *P. lagena*. Oleh karena itu, perlu dilakukan optimasi media pertumbuhan *P. lagena* untuk menghasilkan senyawa aktif yang mampu mematikan patogen *P. lamaroensis*. Metode konvensional rekayasa media untuk optimasi kultivasi dilakukan dengan mengubah satu parameter sedangkan parameter lainnya tetap (Liu &

Tzeng 1998). Metode ini dapat menyebabkan salah interpretasi terhadap hasil terutama ketika pengaruh interaksi antara faktor yang berbeda diabaikan. *Response surface methodology* (RSM) adalah teknik gabungan antara matematika dan statistika untuk membentuk model empiris. Optimasi produksi metabolit dengan menggunakan metode statistika dapat meminimalisir jumlah eksperimen yang dilakukan sehingga mampu menghemat biaya, waktu, dan tenaga. RSM dalam optimasi kultivasi dapat mengkombinasi semua faktor yang terlibat dalam kultivasi (Lepsch & McMillin 1998).

BAHAN DAN METODE

Mikroorganisme

Isolat *Penicillium lagena* dan *Phellinus lamaoensis* kultur stok BPPT-Biotek Serpong, Tangerang Selatan. Isolat diregenerasi di media agar dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 5 hari.

Persiapan inokulum

Penicillium lagena pada media agar ditambahkan 6 mL NaCl fisiologis dan sebanyak 1 mL ditransfer ke 50 mL media vegetatif steril dalam erlenmeyer 500 mL yang berisi *glass bead*. Media vegetatif mengandung 10 g L⁻¹ tepung beras, 10 g L⁻¹ glukosa, 20 g L⁻¹ *soybean meal*, 1 g L⁻¹ KH₂PO₄, dan 0.5 g L⁻¹ MgSO₄.7H₂O. Kultur vegetatif diinkubasi pada suhu 25°C, 220 rpm selama 48 jam.

Pemilihan Sumber Karbon dan Sumber Nitrogen Terbaik

Medium kultivasi untuk pemilihan sumber karbon terdiri dari 10 g L⁻¹ *malt extract*, 10 g L⁻¹ *yeast extract*, 1 g L⁻¹ tripton, 1 g L⁻¹ KH₂PO₄, 1 g L⁻¹ NH₄NO₃, dan karbon dari empat sumber yang berbeda, yaitu laktosa, galaktosa, maltosa, dan glukosa. Media kultivasi untuk pemilihan sumber nitrogen terdiri dari 30 g L⁻¹ glukosa, 20 mL L⁻¹ gliserol, 10 g L⁻¹ dekstrin, 1 g L⁻¹ KH₂PO₄, dan nitrogen dari empat sumber yang berbeda, yaitu *yeast extract*, *malt extract*, tripton, dan NH₄NO₃. Kultivasi *P. lagena* dilakukan dengan menggunakan kultur kocok pada Erlenmeyer 250 mL volume kerja 25 mL pada suhu 25°C, 220 rpm selama 5 hari. Senyawa aktif dari masing-masing media diekstrak kemudian diuji dengan HPLC. Luas area yang terbentuk dihitung sebagai konsentrasi senyawa aktif *P. lagena*.

Pemilihan Konsentrasi Larutan Mineral Terbaik

Menurut Ghatora *et al.* (2006) larutan mineral untuk media kultivasi *P. lagena* terdiri dari 0.02 g L⁻¹ (NH₄)₂SO₄, 0.05 g L⁻¹ KCl, 0.01 g L⁻¹ CaCl₂, 0.05 g L⁻¹ MgSO₄, 0.001 g L⁻¹ ZnSO₄, dan 0.0005 g L⁻¹ CuSO₄. Larutan mineral ditambahkan ke media kultivasi *P. lagena* masing-masing 0, 20, 40, 60, dan 80 mL L⁻¹. Kultivasi *P. lagena* dilakukan dengan menggunakan kultur kocok pada Erlenmeyer 250 mL volume kerja 25 mL pada suhu 25°C, 220 rpm selama 5 hari. Penambahan larutan mineral yang menghasilkan senyawa aktif dengan konsentrasi tertinggi digunakan untuk optimasi media.

Estraksi Senyawa Aktif

Menurut Kaswati (2013), senyawa bioaktif *P. lagena* bersifat ekstraseluler. Media kultivasi disentrifuse dengan kecepatan 8000 rpm selama 15 menit. Supernatan diekstrak menggunakan etil asetat dengan rasio 1:1 (v/v) dan dikocok selama 30 menit. Fase etil

asetat dikeringkan dengan *centrifugal concentrator*. Berat ekstrak ekstraseluler ditimbang dan dibuat konsentrainya menjadi 5000 ppm kemudian diuji dengan HPLC.

Optimasi Komposisi Media Kultivasi untuk Produksi senyawa aktif *Penicillium lagena*.

Rancangan optimasi media menggunakan rancangan *central composite design* (CCD). Rancangan yang digunakan mengandung tiga taraf faktor, yaitu rancangan faktorial 2^3 , *starting point* (titik awal), dan *center point* (titik tengah). Rancangan faktorial dan *starting point* dilakukan dengan dua kali ulangan sedangkan *center point* dilakukan dengan enam kali ulangan sehingga total unit percobaan menjadi 34. Faktor dan level yang digunakan pada *central composite design* disajikan pada Tabel 1. Kultivasi *P. lagena* dilakukan dengan menggunakan kultur kocok pada Erlenmeyer 250 mL volume kerja 25 mL pada suhu 25°C, 220 rpm selama 5 hari.

Tabel 1. Faktor dan level yang digunakan pada *central composite design*

Faktor	Level				
	-1.68	-1	0	1	1.68
Laktosa (g L ⁻¹)	25.99	33.61	44.81	56.01	63.63
Yeast extract (g L ⁻¹)	3.76	7.16	12.16	17.16	20.56
Larutan mineral (mL L ⁻¹)	0	4.05	10	15.95	20

Data optimasi media diolah menggunakan perangkat lunak *Design Expert* versi 7 untuk mendapatkan model matematika sebagai berikut :

$$Y = b_0 + b_1X_{1i} + b_2 X_{2i} + b_3 X_{3i} + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3$$

b_0, b_i, b_{ij} = koefisien regresi

Y = luas area

X_1 = konsentrasi sumber karbon (g L⁻¹)

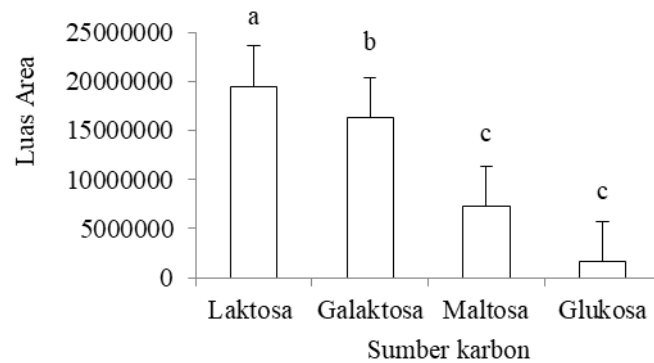
X_2 = konsentrasi sumber nitrogen (g L⁻¹)

X_3 = volume penambahan larutan mineral (mL L⁻¹)

Model yang diperoleh diujikan kembali di laboratorium sebanyak lima ulangan untuk pengujian kesesuaian model.

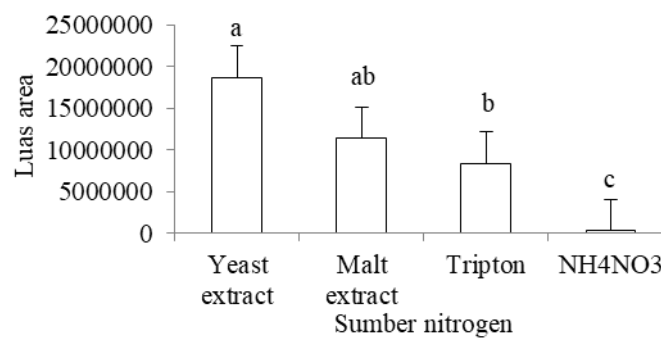
HASIL DAN PEMBAHASAN

Mikroorganisme membutuhkan air, karbon, nitrogen, mineral, dan oksigen apabila aerob dalam proses kultivasi. Bahan-bahan dengan konsentrasi yang sesuai dalam media kultivasi dapat menghasilkan produk yang diinginkan secara optimal. Luas area laktosa paling tinggi dibandingkan galaktosa, maltosa, dan glukosa. Hasil uji lanjut dengan uji perbandingan berganda Duncan pada taraf nyata 0.05 menunjukkan bahwa antara laktosa, galaktosa, dan maltosa berbeda nyata sedangkan maltosa dan glukosa tidak berbeda nyata (Gambar 1). Laktosa dipilih sebagai sumber karbon terbaik. Pada HPLC, luas area sama dengan konsentrasi senyawa yang diuji (Lough & Wainer 1996). Karbon dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk biosintesis dan sebagai sumber energi (Stanbury *et al* 2003).



Gambar 1. Luas area beberapa sumber karbon. Garis vertikal di atas tiap balok data menunjukkan galat baku dan huruf-huruf di atas balok data menunjukkan perbandingan nilai tengah antar sumber karbon berdasarkan uji perbandingan berganda Duncan pada taraf nyata 0.05

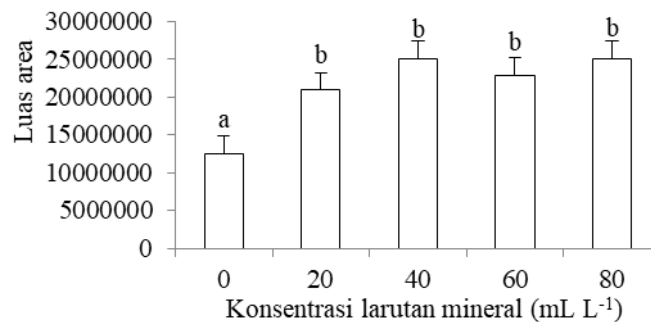
Luas area *yeast extract* paling tinggi dibandingkan *malt extract*, tripton, dan NH_4NO_3 . Hasil uji lanjut dengan uji perbandingan berganda Duncan pada taraf nyata 0.05 menunjukkan bahwa luas area *yeast extract* berbeda nyata dengan tripton dan NH_4NO_3 namun tidak berbeda nyata dengan *malt extract*. *Malt extract* dan tripton juga tidak berbeda nyata (Gambar 2). *Yeast extract* dipilih sebagai sumber nitrogen terbaik. Sumber nitrogen sebagai suplai asam amino, protein, atau urea (Stanbury *et al* 2003). *Yeast extract* adalah substrat yang sangat baik untuk banyak mikroorganisme dalam proses fermentasi karena mengandung asam amino dan peptida, vitamin larut air, dan karbohidrat (Crueger & Crueger 1984).



Gambar 2 Luas area beberapa sumber nitrogen. Garis vertikal di atas tiap balok data menunjukkan galat baku dan huruf-huruf di atas balok data menunjukkan perbandingan nilai tengah antar sumber nitrogen berdasarkan uji perbandingan berganda Duncan pada taraf nyata 0.05

Media kultivasi tanpa larutan mineral memiliki luas area yang lebih rendah dibandingkan media kultivasi yang ditambahkan dengan larutan mineral. Hasil uji lanjut dengan uji perbandingan berganda Duncan pada taraf nyata 0.05 menunjukkan bahwa luas area senyawa antifungi berbeda nyata antara media kultivasi tanpa larutan mineral dengan yang menggunakan larutan mineral. Namun konsentrasi larutan mineral antara 20, 40, 60, dan 80 mL L^{-1} tidak berbeda nyata (Gambar 3). Mineral dengan konsentrasi 0 – 20 mL L^{-1}

dipilih untuk tahap selanjutnya. Mineral dibutuhkan oleh seluruh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan metabolisme (Stanbury *et al* 2003).



Gambar 3 Luas area beberapa konsentrasi larutan mineral. Garis vertikal di atas tiap balok data menunjukkan galat baku dan huruf-huruf di atas balok data menunjukkan perbandingan nilai tengah antar konsentrasi larutan mineral berdasarkan uji perbandingan berganda Duncan pada taraf nyata 0.05

Rancangan optimasi media menggunakan rancangan *central composite design* (CCD) dengan tiga variabel, yaitu laktosa, *yeast extract*, dan mineral. Rancangan percobaan dikodekan untuk tiap faktor, yaitu -1 batas bawah, 0 batas tengah, 1 batas atas, dan 1.68 atau -1.68 *starting point* dengan nilai untuk masing-masing kode dan faktor berdasarkan Tabel 1. Data hasil analisa respon pada optimasi media kultivasi (Tabel 2) diuji jumlah kuadratnya pada beberapa model (Tabel 3) dan menunjukkan bahwa model kuadratik vs 2FI adalah model yang signifikan ($p=0.0002$) dan disarankan. Ringkasan model statistik (Tabel 4) menunjukkan bahwa model kuadratik memiliki nilai *adjusted R-squared* paling besar diantara yang lain, yaitu 0.5025. Nilai *adjusted R-squared* ini menunjukkan bahwa ketiga variabel berpengaruh terhadap keragaman respon sebesar 50.25% sedangkan sisanya dipengaruhi oleh variabel lain yang tidak diteliti. Nilai PRESS (*prediction error sum of squares*) untuk model kuadratik paling rendah, hal ini menunjukkan bahwa model kuadratik adalah model yang paling baik dibandingkan yang lain.

Hasil analisis varian untuk model kuadratik (Tabel 5) menunjukkan bahwa model kuadratik secara signifikan (nilai $p = 0.0011$) dapat mem-pengaruhi respon yang dihasilkan. Pengaruh linier (X_2X_3) dan kuadratik juga menunjukkan hasil yang signifikan ($p<0.05$). Hasil *lack of fit* tidak signifikan (nilai $p = 0.1846$) hal ini menunjukkan bahwa model kuadratik model yang tepat. Ulangan pada center point menghasilkan nilai *pure error*. Perbandingan nilai *mean square lack of fit* dengan *pure error* menghasilkan uji F yang apabila hasilnya tidak signifikan mengindikasikan bahwa model tersebut adalah model yang tepat (Bradley 2007). Persamaan kuadratik yang diperoleh, yaitu:

$$Y = 33862025.028 - 1003653.384 X_1 + 685382.854 X_2 + 1934167.551 X_3 + 1209559.938 X_1X_2 + 2469984.912 X_1X_3 + 3223644.098 X_2X_3 - 6218218.642 X_1^2 - 4848966.772 X_2^2 - 4049669.461 X_3^2$$

Y = luas area senyawa antifungi

X_1 = konsentrasi laktosa ($g L^{-1}$)

X_2 = konsentrasi *yeast extract* ($g L^{-1}$)

X_3 = konsentrasi larutan mineral ($mL L^{-1}$)

Editor: Siti Herlinda *et. al.*

ISBN: 978-979-587-801-8

Tanda negatif (-) pada koefisien kuadrat (X_1^2 , X_2^2 , dan X_3^2) menunjukkan bahwa grafik respon yang diperoleh adalah maksimum atau grafik parabola terbuka ke bawah (Montgomery 2011).

Tabel 2 Data hasil analisa respon pada optimasi media kultivasi menggunakan *central composite design*

Std	Laktosa (g L ⁻¹)	Yeast extract (g L ⁻¹)	Mineral (mL L ⁻¹)	Luas area
1	-1	-1	-1	25632213.49
2	-1	-1	-1	28043940.95
3	1	-1	-1	13644658.29
4	1	-1	-1	20707790.44
5	-1	1	-1	30616399.24
6	-1	1	-1	13062091.77
7	1	1	-1	8147747.73
8	1	1	-1	13573920.10
9	-1	-1	1	20701987.58
10	-1	-1	1	21060811.07
11	1	-1	1	15533080.01
12	1	-1	1	14356295.24
13	-1	1	1	19108353.76
14	-1	1	1	26136337.28
15	1	1	1	27961506.23
16	1	1	1	27395837.89
17	-1.68	0	0	16081040.76
18	-1.68	0	0	7267467.40
19	1.68	0	0	10474195.31
20	1.68	0	0	22166660.26
21	0	-1.68	0	14192296.87
22	0	-1.68	0	17861819.14
23	0	1.68	0	18755308.96
24	0	1.68	0	20671255.27
25	0	0	-1.68	13584879.60
26	0	0	-1.68	16567566.31
27	0	0	1.68	24910128.85
28	0	0	1.68	25461122.26
29	0	0	0	27544701.98
30	0	0	0	36016796.77
31	0	0	0	25678699.37
32	0	0	0	32831997.60
33	0	0	0	36050132.54
34	0	0	0	46612443.00

Tabel 3 Uraian jumlah kuadrat beberapa model (*Sequential Model Sum of Square*) untuk respon luas area senyawa aktif *P. lagena*

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	Keterangan
Mean vs Total	1,60368E+16	1	1,6E+16			
Linear vs Mean	1,42525E+14	3	4,75E+13	0,608226	0.6149	
2FI vs Linear	2,87292E+14	3	9,58E+13	1,257602	0.3086	
Quadratic vs 2FI	1,15658E+15	3	3,86E+14	10,28736	0.0002	Suggested
Cubic vs Quadratic	1,73164E+14	4	4,33E+13	1,19217	0.3447	Aliased
Residual	7,26255E+14	20	3,63E+13			
Total	1,85226E+16	34	5,45E+14			

Tabel 4 Ringkasan model statistik (*Model summary statistics*) untuk respon luas area senyawa aktif *P. lagena*

Source	Std. Dev.	R-Squared	Adjusted R-Squared	Predicted R-Squared	PRESS	Keterangan
Linear	8837968	0,057335	-0,03693	-0,1289116	2,8063E+15	
2FI	8726287	0,172908	-0,01089	-0,0920982	2,7148E+15	
Quadratic	6121745	0,63818	0,502497	0,29552865	1,7512E+15	Suggested
Cubic	6026005	0,70784	0,517937	0,21003759	1,9637E+15	Aliased

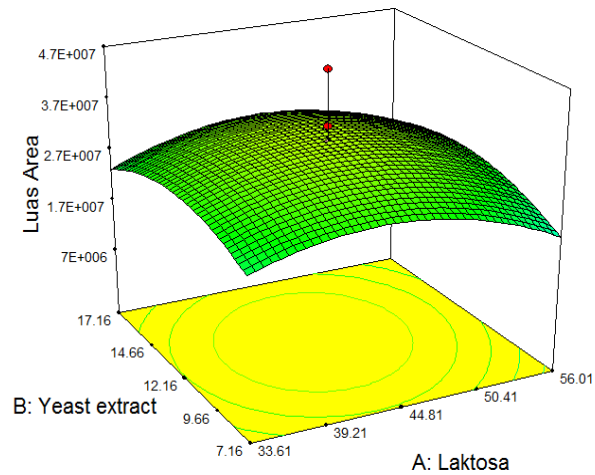
Tabel 5 Analisis varian untuk respon permukaan model kuadratik

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	Keterangan
Model	1,59E+15	9	1,76E+14	4,703475	0.0011	Signifikan
X ₁ -Laktosa	2,75E+13	1	2,75E+13	0,734172	0.4000	
X ₂ -Yeast Extract	1,28E+13	1	1,28E+13	0,342371	0.5639	
X ₃ -Mineral	1,02E+14	1	1,02E+14	2,726581	0.1117	
X ₁ X ₂	2,34E+13	1	2,34E+13	0,624632	0.4371	
X ₁ X ₃	9,76E+13	1	9,76E+13	2,604702	0.1196	
X ₂ X ₃	1,66E+14	1	1,66E+14	4,436737	0.0458	Signifikan
X ₁ ²	8,72E+14	1	8,72E+14	23,26307	< 0.0001	Signifikan
X ₂ ²	5,3E+14	1	5,3E+14	14,14599	0.0010	Signifikan
X ₃ ²	3,7E+14	1	3,7E+14	9,86675	0.0044	Signifikan
Residual	8,99E+14	24	3,75E+13			
Lack of Fit	2,77E+14	5	5,55E+13	1,693411	0.1846	Tidak signifikan
Pure Error	6,22E+14	19	3,27E+13			
Cor Total	2,49E+15	33				

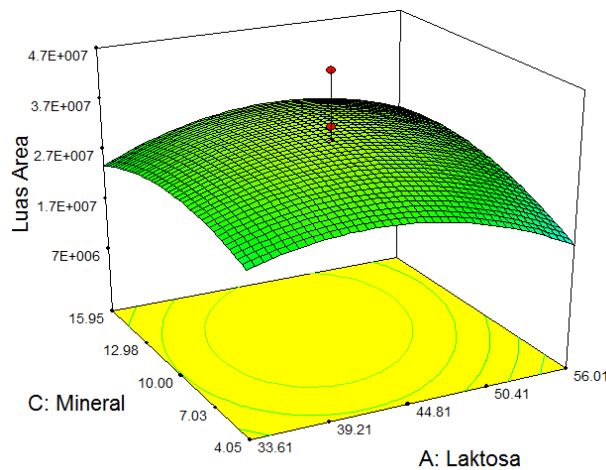
Plot respon permukaan antara variabel laktosa dengan *yeast extract* (Gambar 4) menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi laktosa dan *yeast extract* berpengaruh terhadap produksi senyawa aktif *P. lagena* dengan pengaruh yang relatif sama. Konsentrasi laktosa di atas 56.01 g L⁻¹ level (1) dan konsentrasi *yeast extract* di atas 17.16 g L⁻¹ level (1) mengakibatkan penurunan produksi senyawa aktif *P. lagena*. Tidak ada interaksi antara laktosa dengan *yeast extract* (p=0.4371). Konsentrasi substrat yang tinggi dapat

Editor: Siti Herlinda et. al.

menghambat pertumbuhan sel mikro-organismenya (Edwards, 1970). Pertumbuhan sel yang terhambat menyebabkan metabolit sekunder yang dihasilkan menjadi menurun.

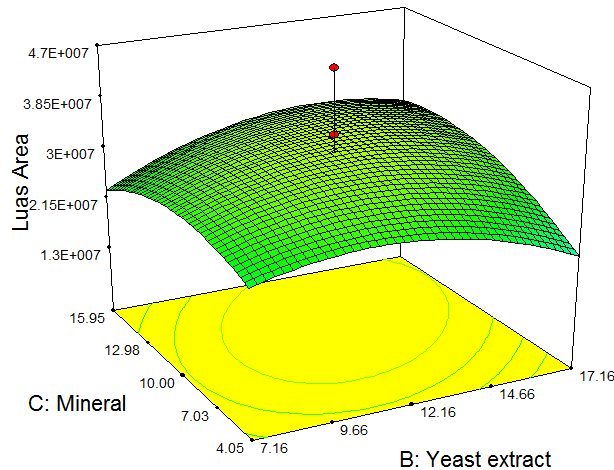


Gambar 4. Plot respon permukaan antara variabel laktosa dengan yeast extract terhadap produksi senyawa aktif *P. lagena*



Gambar 5. Plot respon permukaan antara variabel laktosa dengan mineral terhadap produksi senyawa aktif *P. Lagena*

Plot respon permukaan antara variabel laktosa dengan mineral (Gambar 5) menunjukkan bahwa bahwa kenaikan konsentrasi laktosa dan mineral berpengaruh terhadap produksi senyawa aktif *P. lagena*. Kenaikan konsentrasi mineral lebih berpengaruh terhadap produksi senyawa aktif *P. lagena* dibandingkan kenaikan konsentrasi laktosa. Konsentrasi laktosa di atas 56.01 g L⁻¹ level (1) menyebabkan penurunan produksi senyawa aktif sedangkan konsentrasi larutan mineral di atas 10 mL L⁻¹ level (0) meningkatkan produksi senyawa aktif *P. lagena*. Ghatora *et al* (2006) menggunakan larutan mineral ini untuk kultivasi xilanase dari fungi termofilik dan termotoleran dengan konsentrasi 1% atau 10 mL L⁻¹. *P. lagena* termasuk fungi termotoleran. Tidak ada interaksi antara yeast extract dengan mineral (p=0.1196).



Gambar 6. Plot respon permukaan antara variabel *yeast extract* dengan mineral terhadap produksi senyawa aktif *P. Lagena*

Plot respon permukaan antara variabel *yeast extract* dengan mineral (Gambar 6) menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi *yeast extract* dan mineral berpengaruh terhadap produksi senyawa aktif *P. lagena*. Kenaikan konsentrasi mineral lebih berpengaruh terhadap produksi senyawa aktif *P. lagena* dibandingkan kenaikan konsentrasi *yeast extract*. Konsentrasi *yeast extract* di atas 17.16 g L⁻¹ level (1) mengakibatkan penurunan produksi senyawa aktif *P. lagena* sedangkan konsentrasi larutan mineral di atas 10 mL L⁻¹ level (0) meningkatkan produksi senyawa aktif *P. lagena*. Ada interaksi antara *yeast extract* dengan mineral ($p=0.0458$).

Maksimum konsentrasi senyawa aktif *P. lagena* diprediksi sebesar 32269366.338 dengan komposisi media 44.77 g L⁻¹ laktosa, 13.02 g L⁻¹ *yeast extract*, dan 15.95 mL L⁻¹ larutan mineral. Hasil verifikasi ulang di laboratorium menghasilkan senyawa aktif *P. lagena* sebesar 27203907.310. Hasil ini 15.7% lebih rendah dibandingkan prediksi. Hasil optimasi meningkatkan produksi senyawa aktif *P. lagena* 9 kali lipat dibandingkan dengan media F15 (media basal).

KESIMPULAN

Komponen media kultivasi yang mampu meningkatkan produksi senyawa aktif *P. lagena* adalah laktosa sebagai sumber karbon, *yeast extract* sebagai sumber nitrogen, dan penambahan mineral. Produksi senyawa aktif *P. lagena* tertinggi pada media dengan komposisi 44.77 g L⁻¹ laktosa, 13.02 g L⁻¹ *yeast extract*, dan 15.95 mL L⁻¹ larutan mineral. Optimasi komposisi media mampu meningkatkan produksi senyawa aktif *P. lagena* 10 kali lipat dibandingkan media basalnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Crueger W, Crueger A. 1984. *Biotechnology*. USA: Science Tech, Inc.
Dalimartha S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
Eden T. 1965. *Tea*. London: Longmans, Green and Co ltd.

- Edwards VH. 1970. The Influence of High Substrat Concentration on Microbial Kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 12, 679-712.
- Ghatora SK, Chandha BS, Badhan AK, Saini HS, Bhat MK. 2006. Identifikasi and Characterization of Diverse Xylanases from Thermophilic and Thermotolerant Fungi. *Bio Resources*, 1(1), 18-33.
- Kaswati NMN. 2013. Penapisan dan Identifikasi Senyawa Antijamur Patogen *Phellinus lamaoensis* dari Jamur Endofit pada Tanaman Obat Asal Cirebon. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Lepsch RA, McMillin ML. 1998. Response Surface Model Building and Multidisciplinary Optimization Using D-Optimal Design. *American Institute of Aeronautics and Astronautics*, 98, 47-59.
- Liu BL, Tzeng YM. 1998. Optimazation of Growth Medium for Production of Spores from *Bacillus thuringiensis* Using Reponse Surface Methodology. *Bioproses and Biosystems Engineering*, 18, 413-418.
- Lough WJ, Wainer IW. 1996. *High Performance Liquid Chromatography*. Glasgow: Blackie Academic & Professional.
- Mejía LC, Rojas EI, Maynard Z, Bael SV, Arnold AE, Hebbar P, Samuel GJ, Robbins N, Herre EA. 2008. Endophytic Fungi as Biocontrol Agents of *Theobroma cacao* Pathogens. *Biological Control*, 46, 4-14.
- Montgomery DC. 2001. *Design and Analysis of Experiments 5th Edition*. USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. 2010. *Buku Pintar Budi Daya Kakao*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Nazaruddin, Paimin FB. 1992. *Karet*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Selim KA, El-Beih AA, AbdEl-Rahman TM, El-Diwany AI. 2012. Biology of Endophytic Fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, 2(1), 31-82.doi: 10.5943/cream/2/1/3.
- Semangun H. 2000. *Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Stanbury PF, Whitaker A, Hall SJ. 2003. *Principles of Fermentation Technology 2nd Edition*. Great Britain: MPG Books Ltd.
- Tran HBQ, McRae JM, Lynch F, Palombo EA. 2010. Identification and Bioactive Properties of Endophytic Fungi Isolated from Phyllodes of *Accacia* Species. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 1, 377-382.
- Triharso. 1994. *Dasar-Dasar Perlindungan Tanaman*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wilson EO. 1988. *Biodiversity*. Washington DC: National Academy Press.
- Wood GAR, Lass RA. 1989. *Cocoa*. New York: John Wiley & Sons, Inc.