

Peningkatan aktivitas rhizopus stolonifer UICC 137 dan rhizopus stolonifer 137 M untuk biotransformasi progesteron menjadi 11 a hidroksiprogesteron dengan mutagen NTG

Djuma`ali, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=78403&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Upaya untuk meningkatkan aktivitas biotransformasi progesteron menjadi 11 a-hidroksiprogesteron oleh kapang lokal Rhizopus stolonifer UICC 137 dengan cara pemilihan media dan perbaikan galur dengan cara iradiasi UV, belum memberikan hasil seperti yang diinginkan.

Pada Penelitian ini, Galur Rhizopus stolonifer UICC 137 dan Rhizopus stolonifer 137 M yang merupakan mutan dari R stolonifer UICC 137 yang diperoleh dengan radiasi UV, dikembangkan sehingga memiliki kemampuan mentransformasi progesteron menjadi 11cc-hidroksiprogesteron yang lebih tinggi dari galur tetuanya.

Pengembangan galur dilakukan dengan cara mutasi kimia menggunakan N-metil-N-nitro-N-nitrosoguanidin (NTG). Perlakuan dengan konsentrasi NTG 100 mg/l dan 120 mg/l selama 2 jam yang memberikan laju kehidupan 1 % digunakan untuk memproduksi mutan mutan yang diharapkan. Sebanyak 56 isolat mutan dari tetua tipe liar dan 58 isolat dari tetua tipe mutan dikoleksi untuk pengujian lebih lanjut.

Seleksi mutan dilakukan berdasarkan kestabilan aktivitas biotransformasi sampai generasi ke-5 dengan menggunakan kondisi optimum hasil penelitian sebelumnya (pH 5,0 ; temperatur 30 °C ; laju pengadukan 100 rpm ; dan kepadatan inokulum 2×10^6 spora/ml, dengan volume kerja 20 ml dalam labu erlenmeyer 100 ml). Isolat LM 02, MM 19 dan MM 79 merupakan mutan yang stabil dan mempunyai kemampuan yang lebih tinggi dalam biotransformasi progesteron menjadi 11 cc-hidroksiprogesteron dibanding dengan tetuanya.

Optimasi biotransformasi dengan penambahan induser memberikan hasil bahwa konsentrasi induser (progesteron) 10-3M mampu meningkatkan aktivitas biotransformasi tertinggi untuk semua isolat yang diuji. Induksi sintesis enzim yang berperan dalam menghidroksilasi progesteron juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat yang tersedia dalam medium. Konsentrasi substrat sebesar 0,75 g/l merupakan konsentrasi substrat terbaik. untuk isolat isolat LM 02, MM 19 dan MM 79. Berlangsungnya reaksi .biotransformasi juga sangat dipengaruhi oleh ketersediaan oksigen terlarut dalam medium. Laju transfer oksigen (OTR) sebesar 0,0196608 g mol O₂/l.jam, memberikan hasil terbaik dengan aktivitas biotransformasi sebesar 59,97 ; 72, 03 ; 64,90 ; 46,73 dan 46,17 % masing-masing untuk isolat LM 02, MM 19, MM 79 dan tetua liar (L) dan tetua Mutan (M).

Kondisi optimum untuk reaksi biotransformasi isolat terpilih LM 02, MM 19 dan MM 79 adalah sebagai berikut : penambahan induser sebesar 10⁻³ M, waktu penambahan substrat jam ke-14 setelah inokulasi,

konsentrasi substrat sebesar 0,75 g/l serta OTR 0,0196608 g mol 02/l.jam. Persentase rendemen hasil hidroksilasi progesteron menjadi 11a-hidroksiprogesteron masing-masing sebesar 28,33 ; 56,01 ; dan 40,56 % lebih tinggi dari kontrol (tetua Liar dan tetua Mutan).

ABSTRACT

Enhancement of the Activity of Rhizopus Stolonifer UICC 137 and Rhizopus Stolonifer 137 M for Biotransformation of Progesterone to 11-a Hydroxyprogesterone An attempt to enhance the biotransformation activity of progesterone to 11-a hydroxyprogesterone of indigenous mold Rhizopus stolonifer UICC 137 by selection of media and strain improvement has not met the satisfactory result. In this research, Rhizopus stolonifer UICC 137 (wild type) and Rhizopus stolonifer UICC 137 M, a mutant strain obtained by γ irradiation, were developed so that it possess higher- activity in transforming progesterone to 11-a hydroxyprogesterone than that of its parents.

Strain development was done by chemical mutagenesis with N-methyl-N nitro-N-Nitrosoguanidine (NTG). Mutagenesis with NTG 100 mg/l and 120 mg/l that provide survival rate of 1% was used for mutant production. Fifty six strains of mutant from wild type parent and 58 strains of mutant from mutant parent were collected for further experiment.

The selection of mutant was based on the stability of biotransformation activity until the 5th generation. The molds were cultivated under optimum condition of the previous experiment (pH 5.0; temperature 30° C; agitation 100 rpm and inoculum size 2×10^6 spore/ml). Strains LM 02, MM 19 and MM 79 were stable mutants and possess higher activity in transforming progesterone to 11-a hydroxyprogesterone than their parents.

Optimization of biotransformation condition with inducer addition exhibited that progesterone 10⁻³ M is able to enhance the biotransformation of all strains tested. Induction of enzyme responsible for progesterone 11-a hydroxylation was affected by the concentration of the substrate. Progesterone 0.75 g/l was the best concentration for Lm 02, MM 19 and MM 79. Biotransformation reaction was also strongly affected by dissolved oxygen concentration in media. Upon determination of oxygen transfer rate (OTR) optimum for biotransformation, OTR 0.0196608 g mol. 02/l.h. exhibited the highest activity. Under this condition the biotransformation activity of LM 02, MM 19 MM 79 wild type (L) and mutant parent (M) were 59.97; 72.03; 64.9; 46.73 and 46.17% respectively.

Optimum condition for biotransformation reaction for selected strains is: inducer (progesterone) 10⁻³M, substrate addition 14 h after inoculation, substrate concentration 0.75 g/l and OTR 0.0196608 g mol 02/l.h. Conversion of progesterone II-a hydroxylation were 28.33; 56.01; 40.46 % higher than their control (parents).