

Biotransformasi progesteron dan 11-deoksikortisol oleh rhizopus stolonifer uicc 137, aspergillus niger dan curvularia lunata

Tambunan, Usman Sumo Friend, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=76689&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Beberapa senyawa steroid yang aktif farmakologik memiliki atom oksigen pada atom karbon posisi sebelas (C-11), misalnya: kortison, kortikosteron, aldosteron, prednison dan prednisolon. Untuk mendapatkan senyawa steroid yang aktif farmakologik tersebut dapat dilakukan dengan cara partial sintesis. Salah satu tahap yang diperlukan pada partialsintesis tersebut adalah melakukan reaksi hidroksilasi senyawa steroid yang ada (progesteron atau deoksikortisol) pada posisi C-11. Reaksi hidroksilasi pada posisi C-11 ini merupakan reaksi yang sulit dilakukan secara reaksi kimia biasa.. Suatu cara lain ialah melakukan reaksi dengan biotransformasi.

Tujuan penelitian adalah untuk mempelajari kemampuan Rhizopus stolonifer UICC 137 dan Aspergillus niger melakukan reaksi 11-hidroksilasi pada substrat progesteron. Hasil transformasi yang diharapkan adalah 11a-hidroksiprogesteron dan mempelajari kemampuan Curvularia lunata melakukan reaksi hidroksilasi pada substrat 11-deoksikortisol dan mempelajari pengembangan galur Rhizopus stolonifer UICC 137 untuk mentransformasi progesteron menjadi 11a hidroksiprogesteron dengan teknik iradiasi sinar y CO-60. Serta mempelajari pengembangan galur Rhizopus stolonifer UICC 137 dan Rhizopus stolonifer UICC 137/n1 dengan teknik kimia NTG

Pada penelitian ini, kemampuan Rhizopus stolonifer UICC 137 dan Aspergillus niger mentransformasi progesteron menjadi 11a-hidroksiprogesteron dilakukan pada media cair - standar dengan variabel: waktu/saat penambahan substrat, waktu inkubasi, tingkat keasaman (pH) media cair awal, konsentrasi substrat dan laju pengadukan. Rancangan percobaan adalah acak kelompok, kecuali untuk variabel laju pengadukan memakai Rancangan acak lengkap. Setiap percobaan dilakukan dengan tiga kali pengulangan dan data yang diperoleh diuji dengan analisis ragam (ANOVA) serta analisis Duncan dengan $\alpha = 0,01$.

Kemampuan Curvularia lunata mentransformasi 11-deoksikortisol menjadi hidrokortisol dilakukan pada media cair standar dengan variabel: pengaruh waktu germinasi, pengaruh waktu inkubasi, pengaruh pH awal medium, pengaruh konsentrasi substrat dan pengaruh laju pengadukan. Rancangan percobaan adalah acak kelompok, kecuali untuk variabel laju pengadukan memakai rancangan acak lengkap. Setiap percobaan dilakukan dengan tiga kali pengulangan dan data yang diperoleh diuji dengan analisis ragam (ANOVA) serta analisis Duncan dengan $\alpha = 0,05$. Pada kondisi aseptik, suspensi Rhizopus stolonifer UICC 137 diradiasi dengan sinar y Co-60 dengan dosis 0,1;0,2;0,3;0,4;0,5 dan 0,6 kgy. Sel yang hidup dari koloni yang memiliki % survive terkecil, ditumbuhkan di medium PDA agar pada petridish dan selanjutnya koloni tunggalnya diambil untuk uji aktivitas biotransformasinya. Rhizopus stolonifer UICC 137 dan Rhizopus stolonifer UICC 137/n1 ditumbuhkan pada media yang mengandung NTG: 0, 6,12, 18, 24, 30 x 10³ ppm.

Selanjutnya dilakukan seleksi dengan menggunakan prosedur standar seperti pada mutasi iradiasi.

Rhizopus stolonifer UICC 137 dan Aspergillus niger dapat mentransformasikan progesteron menjadi 11a-hidroksiprogesteron. Kondisi optimum biotransformasi oleh Rhizopus stolonifer UICC 137 adalah: Saat penambahan substrat 14 jam setelah pertumbuhan, waktu inkubasi 8 jam, pH awal media 5, konsentrasi substrat 1 g/l, laju pengadukan 100 gojogan/menit dengan transformasi progesteron menjadi 11a-hidroksiprogesteron 54,8 %. Sedangkan kondisi optimum biotransformasi oleh Curvularia lunata adalah : Saat penambahan substrat 26 jam setelah pertumbuhan, pH awal media 6, waktu inkubasi 20 jam, konsentrasi substrat 0,6 g/L, dan laju pengadukan 100 gojogan/menit dengan transformasi 46,5 %. Jika ditinjau dari keseluruhan proses biotransformasi progesteron menjadi 11a-hidroksiprogesteron, maka biotransformasi oleh Rhizopus stolonifer UICC 137 lebih baik untuk dikembangkan Bari pads Aspergillus niger.

Kondisi optimum biotransformasi 11-doksikortisol menjadi hidrosikortison oleh Curvularia lunata adalah: waktu germinasi 36 jam, pH medium awal 6, waktu inkubasi 50 jam, konsentrasi substrat 1,5 g/L, dan laju pengadukan 120 gojogan/menit dengan transformasi 19,31 %. Mutasi dengan dosis 0,6 kgy menghasilkan % survive terkecil dan dari koloni tersebut telah diisolasi beberapa mutan : Fln1, F2n1, F3n1, F4n1, F5n1 dan F6n1. Mutan Fln1, F4n1, G5n1 dan F6n1 memiliki aktivitas biotransformasi yang tidak berbeda dengan aktivitas R.stolonifer UICC 137 (inangnya). Mutan F2n1 dan F3n1 memiliki aktivitas biotransformasi progesteron menjadi 11a-hidroksiprogesteron yang lebih baik jika dibandingkan dengan inangnya, masing-masing 82% dan 71%.

Mutagenesis dengan NTG menghasilkan 30 isolat bare dan diperoleh bahwa isolat GT40, Gt15, dan Gnl64 mentransformasi lebih baik dari Kontrol, yaitu masing-masing 273,9 %; 208,4 %; dan 341,9 %.

<hr><i>ABSTRACT</i>

Several pharmacological active steroid compound have an oxygen atom attached to C-11, such as: cortisone, corticosterone, prednisone and prednisolone. These active compounds could be produced through a partially synthesize method. Therefore, the hydroxylation of an available steroid compound (Progesterone or 11-deoxycortisol) at C-11 is required in one of the reaction steps. The hydroxylation at C-11 could be conducted by using biotransformation, since the ordinary chemical reaction is difficult to carry out.

The aim of this study is to determine the ability of Rhizopus stolonifer UICC 137 and Aspergillus niger to transform the C-11 through the hydroxylation of progesterone and it is expected that one the reaction product is 11a-hydroxyprogesterone, and to determine the ability of Curvularia lunata to transform the C-11 through the hydroxylation of 11-deoxycortisol and to study the mutation of Rhizopus stolonifer UICC 137 by using y irradiation an chemical (NTG) method.

Biotransformation was carried out in standard liquid medium using Randomized Block Design and the interval of substrate addition, incubation time, acidity (pH), substrate concentration were varied. In case of stirring rate, the design was Completely randomized. every variation observed and conducted 3 times (triple)) and the data was analysed by using ANOVA method and Duncan analysis with $\alpha = 0,01$.

The experiment for *Curvularia lunata* based on 11-deoxycortisol transformation to cortisol. The biotransformation was carried out with five experiment parameters, i.e. : sporulation time, incubation time, acidity (pH), substrate concentration and stirring rate. Biotransformation was carried out on batch system in 100 mL Erlenmeyer flasks (for optimum conditions of biotransformation, 500 mL erlenmeyer flasks were used) and in standart liquid medium. For mutation studies of *R. stolonifer* UICC 137, under aseptic conditions, the cell suspension was irradiated with 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,4; 0,5 and 0,6 kgy of CO-60 y irradiation. The survival cells (from 0,6) were spreaded and grown on PDA plates. The colonies on plates were picked for biotransformation test. *Rhizopus stolonifer* UICC 137 and *Rhizopus stolonifer* UICC I37/n1 were grown on PDA plates contained NTG: 0; 6; 12; 18; 24 and 30 x 10' ppm. The single colonies on plates were picked and screened by using standard method.

The study indicated that *Rhizopus stolonifer* UICC 137 and *Aspergillus niger* have an ability to transform progesterone to 11 α -hydroxyprogesterone. The optimum condition obtained for *Rhizopus stolonifer* UICC 137 are as follows: substrate addition period of 14 hours, 8 hours of incubation time, pH 5, substrate concentration of 1 g/L and stirring rate of 100 strokes/minute and the yield is 54,8 %. The optimum conditions obtained for *Aspergillus niger* are as follows: substrate addition period of 26 hours, incubation time of 20 hours, pH 6, substrate concentration of 0,6 g/L and stirring rate of 100 strokes/minute and the yield is 46,5 %. The result shows that the biotransformation ability of *Rhizopus stolonifer* UICC 137 to produce 11 α -hydroxyprogesterone is superior to the *Aspergillus niger*.

The optimum conditions for 11-deoxycortisol biotransformation were found as follows: spore germination for 36 hours, biotransformation in a liquid medium with the initial pH6, substrat concentration of 1,5 g/L, and 50 hours of incubation time at 120 stroke/minute taking. The yield of biotransformation is 19,31 %. Mutation of parent train *Rhizopus stolonifer* UICC 137 by CO-60 y irradiation produced several mutans, such as: F1n1, F2n1, F3n1, F4n1, F5n1 and F6n1. Mutans of F1n1, F4n1, F5n1 and F6n1 have the same activities compared to the parent strain *Rhizopus stolonifer* UICC 137. The biotransformation ability of mutans F2n1 and F3n1 to produce 11 α -hydroxyprogesterone are superior to the parent strain *Rhizopus stolonifer* UICC 137. NTG chemical mutagenesis produced 30 new strains and Gt40, Gt15, Gnt64 transform progesterone higher than the parent strain (control).