

**OPTIMASI PRODUKSI SPORA PENGHASIL β -KAROTEN DARI KAPANG
Neurospora sitophila MENGGUNAKAN METODE PERMUKAAN RESPON
(Kajian : Lama Fermentasi dan Konsentrasi Starter)**

Trisita Novianti¹, Wignyanto², dan Irdia Nurika²

1. Alumnus Jur. Tek. Industri Pertanian. Fak. Tek Pertanian Univ. Brawijaya Malang
2. Staf Pengajar Jur. Tek. Industri Pertanian Univ. Brawijaya Malang

Abstrak

Pemenuhan gizi merupakan masalah yang masih sulit diatasi di negara-negara berkembang seperti Indonesia, salah satunya adalah kurangnya pemenuhan vitamin A. Sumber provitamin A, terutama β -karoten, banyak terdapat pada sayuran dan buah-buahan yang berwarna kuning atau hijau, alternatif lain dari pemenuhan vitamin A bisa didapatkan dari jenis kapang *Neurospora sitophila* dengan medium ampas tahu yang disertai lama fermentasi dan konsentrasi starter yang telah diatur dalam kondisi optimal.

Rancangan percobaan menggunakan rancangan komposit pusat dengan dua faktor (lama fermentasi dan konsentrasi starter kapang *Neurospora sitophila*) dan dua respon (konsentrasi β -karoten dan jumlah total spora). Variabel pada faktor lama fermentasi adalah 5,172 hari, 6 hari, 8 hari, 10 hari, dan 10,828 hari, sedangkan variabel pada faktor konsentrasi starter adalah 1,757%, 3%, 6%, 9%, dan 10,243%. Analisis yang dilakukan meliputi: analisis β -karoten, analisis perhitungan jumlah total spora, analisis pH, analisis kadar air, dan optimasi dengan metode permukaan respon.

Hasil perhitungan untuk respon konsentrasi β -karoten dari kapang *Neurospora sitophila* mengikuti persamaan model kuadrat $Y = 86,18265 + 7,63485 X_1 + 1,67998 X_2 - 0,41042 X_1^2 - 0,086288 X_2^2 - 0,062833 X_1X_2$ dengan $R^2 = 95,06\%$ dan respon jumlah total spora dari kapang *Neurospora sitophila* mengikuti model $Y = 10,77813 + 0,11552 X_1 + 0,023106 X_2 - 6,85906 \cdot 10^{-3} X_1^2 - 2,13736 \cdot 10^{-3} X_2^2 + 7,79167 \cdot 10^{-4} X_1X_2$ dengan $R^2 = 98,28\%$. Hasil konsentrasi β -karoten yang optimal untuk penerapan industri adalah 125,2408 ppm dengan jumlah total spora yang optimal sebesar 11,3682 log spora/ml, sedangkan lama fermentasi yang optimal adalah 9 hari dengan konsentrasi starter sebesar 6,8%.

Kata Kunci : β -karoten, *Neurospora sitophila*

**OPTIMIZATION SPORES PRODUCING β -KAROTEN OF FUNGUS
Neurospora sitophila BY RESPONSE SURFACE METHOD
(On Fermentation Process Duration and Starter Concentration)**

Abstract

Supplying nutrient was still difficult problem in developing countries like Indonesia, one of them was the lack of supplying vitamin A. Provitamin A source, especially β -karoten, much β -karoten could be gotten from fruits and vegetables which have yellow or green colour, the others alternative of supplying vitamin A could be gotten from fungus *Neurospora sitophila* strain in solid tofu waste medium on fermentation process duration and starter concentration which have been adjusted in optimal condition

Experimental design used central composite design with two factors (fermentation process duration and starter concentration of fungus *Neurospora sitophila*) and two responses (β -karoten concentration and spores amount). Variables of fermentation process duration factor were 5,172 days, 6 days, 8 days, 10 days, and 10,828 days, while variables starter concentration factor were 1,757%, 3%, 6%, 9%, and 10,243%. Analysis which have done, were: β -karoten analysis, spores amount analysis, pH analysis, moisture content analysis, and optimization by response surface method were the research process.

The counting result were β -karoten concentration of fungus *Neurospora sitophila* response had quadratic model $Y = 86,18265 + 7,63485 X_1 + 1,67998 X_2 - 0,41042 X_1^2 - 0,086288 X_2^2 - 0,062833 X_1 X_2$ with $R^2 = 95,06\%$ and spores amount of fungus *Neurospora sitophila* response had quadratic model $Y = 10,77813 + 0,11552 X_1 + 0,023106 X_2 - 6,85906 \cdot 10^{-3} X_1^2 - 2,13736 \cdot 10^{-3} X_2^2 + 7,79167 \cdot 10^{-4} X_1 X_2$ with $R^2 = 98,28\%$. For the applying of industry, the result of optimal β -karoten concentration was 125,2408 ppm with optimal spores amount was 11,3682 log spora/ml, while optimal fermentation process duration was 9 days with optimal starter concentration was 6,8%.

Key Word : β -karoten, *Neurospora sitophila*

PENDAHULUAN

Rabun senja atau buta malam merupakan penyakit yang sudah lama dikenal sejak jaman Mesir dan Yunani Kuno, rabun senja hanya contoh kecil untuk penyakit mata yang terjadi karena kekurangan mengkonsumsi vitamin A, contoh penyakit mata lainnya adalah xerofthalmia yang dapat mengakibatkan kebutaan. Masalah yang masih sulit diatasi di negara berkembang seperti Indonesia adalah pemenuhan kebutuhan gizi bagi penduduknya.

Menurut Linder (1992), fungsi utama pada vitamin A antara lain adalah mempunyai peranan utama dalam pemeliharaan penglihatan manusia, pemeliharaan fungsi-fungsi epitel, pembentukan darah, ketahanan terhadap infeksi, untuk pendewasaan dan degenerasi pertumbuhan tulang, dan untuk kesuburan/fertilitas. Sumber vitamin A adalah karotenoid yang merupakan salah satu pigmen alami yang penting peranannya dalam pengolahan pangan. Menurut Andarwulan dan Koswara (1992), karotenoid yang merupakan prekursor vitamin A disebut sebagai provitamin A, sedangkan vitamin A yang disimpan dalam jaringan hewan disebut sebagai vitamin A

Provitamin A yang paling potensial adalah β -karoten yang ekuivalen dengan 2 vitamin A. Sumber provitamin A, terutama β -karoten yang paling penting bagi manusia banyak terdapat di semua sayuran dan buah-buahan yang berwarna kuning atau hijau, seperti wortel, aprikot, selada, dan bayam. Alternatif lain untuk mendapatkan β -karoten selain dari sayuran adalah dari mikroorganisme penghasil β -karoten, antara lain dari jenis kapang *Neurospora sitophila* dengan menggunakan teknologi fermentasi.

Faktor dan kondisi fermentasi berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme, sehingga perlu diperhatikan faktor-faktor seperti: pH, suhu, keperluan oksigen, kadar air, dan komposisi medium (Fardiaz, 1988). Medium tumbuh kapang *Neurospora sitophila* menggunakan limbah hasil pertanian yaitu ampas tahu yang dilihat dari komposisi kimianya masih memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi dan ketersediaannya yang cukup banyak di Indonesia yang penggunaannya sampai saat ini masih terbatas, seperti sebagai makanan ternak, pembuatan oncom, dan tempe ampas tahu.

Lama fermentasi kapang *Neurospora sitophila* dalam medium ampas tahu menentukan saat yang tepat untuk melakukan pemanenan β -karoten dan mendapatkan hasil panen yang optimal. Konsentrasi starter *Neurospora sitophila* yang ditambahkan secara tepat mempengaruhi aktivitas kapang untuk memproduksi β -karoten. Pengaturan kedua hal tersebut secara tepat perlu diteliti agar spora dengan β -karoten yang dihasilkan dapat dihasilkan secara optimal dan hasil penelitian untuk selanjutnya dapat digunakan ke pendekatan skala industri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui lama fermentasi dan konsentrasi starter kapang *Neurospora sitophila* yang tepat dalam medium ampas tahu sehingga menghasilkan spora penghasil β -karoten yang optimal.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan tanggal 5 Januari 2004 – 6 April 2004 bertempat di Laboratorium Bioindustri dan Pengelolaan Limbah, Laboratorium Rekayasa Proses,

dan Laboratorium Biokimia dan Nutrisi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan meliputi otoklaf, oven elektrik (Heraeus), spektrofotometer (UV-2100 UNICO), timbangan analitis (AND CR 200), mikroskop (Euromax, model MIC 845-847), mikroskop (Olympus, model CX41), *digital camera* (Olympus, model SC35, *acceptable camera* 35 mm), kamera (Pentax, model P30r, *acceptable camera* 35-80 mm), vortek (Chiltern), pH-meter (Schott), haemocytometer (Neubauer), desikator, UV box, kompor gas (Rinnai), oven pengering, blender (Philips), *refrigerator* (LG), pemanas Bunsen, *glass ware* (Pyrex, Approx, Schoot Duncan, Boro), Petridish, mortar, tatakan plastik tempat memiringkan tabung reaksi, pipet, *pipet ball*, jarum ose, spatula, pinset, tabung plastik (Tupper Ware), ayakan 20 mesh, dan kain saring.

Bahan yang digunakan meliputi ampas tahu kering (ampas tahu basah diperoleh dari industri tahu di daerah Betek-Malang), akuades, glukosa, *yeast extract*, tween 80, asam asetat (cuka makan), media *Potato Dextro Agar* (PDA), kertas perkamen, karet gelang, kapas,

alkohol, spirtus, etanol 70% (Teknis, One Med) dan etanol 96% (*Pure Analyze*, Merck) untuk analisis.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan komposit pusat yang terdiri dari dua faktor yang terdapat dua taraf dari setiap faktor yang diberi kode sebagai -1 dan +1 dan dilakukan lima pengulangan pengamatan pada titik pusat dengan kode 0. Faktor pada rancangan ini adalah lama fermentasi (X_1) dan konsentrasi starter (X_2). Respon pada rancangan ini adalah konsentrasi β -karoten (Y_b) dan jumlah total spora (Y_s).

Menurut Hestingrum (2003), konsentrasi β -karoten dihitung berdasarkan hasil absorbansi (pengamatan aktual dari spektrofotometer) sampel pada rancangan percobaan telah diplotkan pada persamaan regresi pada kurva standar, diperoleh kurva standar berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan dan diperoleh persamaan regresi yaitu : $Y = 0,0254X - 0,0209$.

Program untuk pengolahan data statistik diperoleh dari *download* melalui internet dengan alamat www.Statease.com yaitu program *Design-Expert DX6.0.10 (trial version)*.

Tabel 1. Rancangan Komposit Pusat

No.	Run	Factors				Responses	
		Coded		Actual		Yb	Ys
		X ₁	X ₂	T	S		
1	4	0	0	8	6	124,7206	11,3601
2	3	0	0	8	6	125,5143	11,3693
3	2	0	0	8	6	125,3158	11,3639
4	6	0	0	8	6	124,4031	11,3583
5	13	0	0	8	6	124,8079	11,3602
6	5	-1,414	0	5,172	6	119,3952	11,2737
7	7	1,414	0	10,828	6	123,3317	11,3334
8	11	0	-1,414	8	1,757	122,8158	11,3038
9	9	0	1,414	8	10,243	123,3714	11,3361
10	10	-1	-1	6	3	120,4349	11,2929
11	12	1	-1	10	3	123,9349	11,3249
12	6	-1	1	6	9	122,4984	11,3050
13	1	1	1	10	9	124,4904	11,3557

Keterangan:

- T dan X₁ = lama fermentasi kapang *Neurospora sitophila* (hari)
- S dan X₂ = konsentasi starter kapang *Neurospora sitophila* (%)
- Yb = konsentrasi β -karoten kapang *Neurospora sitophila* (ppm)
- Ys = jumlah total spora kapang *Neurospora sitophila* (log spora/ml)

Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan Penelitian meliputi pembuatan medium PDA, pembuatan ampas tahu kering, pembuatan inokulum, pembuatan starter, analisis kimia, dan analisis statistik menggunakan program *Design-Expert DX6.0.10 (trial version)* dengan menggunakan metode permukaan respon (*response surface method*).

Pembuatan Ampas Tahu Kering

Ampas tahu basah diperas kemudian dikeringkan dengan suhu 50 °C selama 2 hari atau hingga kering. Ampas tahu kering diblender dan diayak dengan ayakan 20 mesh.

Pembuatan Inokulum

Kapang *Neurospora sitophila* digores dengan jarum ose secara aseptis pada permukaan PDA miring, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari.

Pembuatan Starter

Medium starter dibuat dari 10 gram ampas tahu kering dengan penambahan mineral sebanyak 1,8 gram glukosa; 0,08 gram *yeast extract*. Mineral tersebut dilarutkan dalam 12 ml akuades, kemudian dilakukan penyesuaian pH dengan menambahkan asam asetat (cuka makan) beberapa tetes hingga pH medium $\pm 5,5$; apabila pH medium sudah mencapai $\pm 5,5$ maka tidak perlu penambahan asam asetat, selanjutnya dihomogenkan dengan spatula. Semua bahan disterilisasi (Erlenmeyer 250 ml) dengan suhu 121 °C, 15 menit, setelah didinginkan sesuai dengan suhu ruang maka diinokulasi dengan spora sebanyak 1 tabung reaksi (medium PDA) di dalam UV box, kemudian dihomogenkan dengan spatula dan diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari, spora yang digunakan sebagai starter dipisahkan dengan media ampas tahu dengan pinset secara aseptis kemudian dilakukan inokulasi di dalam UV box secara aseptis dengan menambahkan starter ke dalam media percobaan (media ampas tahu) sesuai perlakuan, kemudian dihomogenkan dengan spatula dan diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari.

Analisis Kimia

Analisis yang dilakukan meliputi:

analisis β -karoten, analisis jumlah total spora, analisis pH, analisis kadar air.

Permodelan

Pengolahan data sesuai dengan prosedur yang ada di *Design-Expert DX6.0.10* adalah sebagai berikut:

1. Data yang dimasukkan pada rancangan komposit terpusat adalah 2 faktor yaitu faktor lama fermentasi (X_1) dan faktor konsentrasi starter (X_2), pengulangan pada data adalah 5 pengulangan pada titik tengah, respon pada rancangan komposit terpusat terdiri dari 2 respon, yaitu respon konsentrasi β -karoten (Y_b) dan respon jumlah total spora (Y_s).
2. Pendugaan awal pada data yang berasal dari evaluasi untuk model adalah kuadratik. Evaluasi meliputi:
 - a. *Aliased models*, yang menentukan apakah model yang dipilih cukup untuk mengestimasi koefisien model yang diinginkan, jika tidak terdapat “*no aliased model*” berarti desain model sudah cukup.
 - b. *Degrees of Freedom/DF* (derajat bebas), desain yang baik mempunyai minimal DF simpangan model 3, dan DF galat murni minimal 4.
 - c. *Variance Inflation Factor* (VIF), jika suatu koefisien bersifat orthogonal maka nilai VIF adalah 1 jika nilai VIF lebih dari 10 maka mengindikasikan adanya multikolinieritas.
 - d. *Leverage of design points*, jika nilai ini menjauhi satu maka model semakin baik
 - e. *G-efficiency*, yang merupakan rata-rata ragam prediksi sebagai presentasi ragam prediksi maksimum, nilai yang diinginkan jika paling sedikit 50%.
 - f. *Condition number of the correlation matrix*, mengindikasikan derajat multikolinieritas dan desain bersifat orthogonal.
3. Kemudian dilakukan analisis data, ada dua respon yang diamati, maka dilakukan analisis pada masing - masing respon. Semua model polinomial untuk respon yang dipilih dicocokkan dengan

perhitungan linier, berdasarkan perhitungan statistik jika menunjukkan model nyata, maka model tersebut akan disarankan. Model yang disarankan mempunyai P kurang dari 0,05 (berpengaruh nyata), dan simpangan model (*lack of fit*) mempunyai nilai lebih dari 0,1 (tidak berpengaruh nyata).

4. Selanjutnya dilakukan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan model yang sudah terpilih. Model berpengaruh nyata jika nilai P kurang dari 0,05 (peluang kesalahan kurang dari 5%), sedangkan model bersifat tidak berpengaruh nyata jika nilainya lebih dari 0,1 (peluang kesalahan lebih dari 10%).
5. Kemudian dilakukan diagnosis dengan menggunakan diagram pencar untuk mengetahui dan melihat sebaran data pada model kuadrat.
6. Langkah terakhir adalah pengoptimalan respon konsentrasi β -karoten (Y_b) dan respon jumlah total spora (Y_s) dengan batasan faktor yang sesuai pada rancangan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi Model (*Result of Evaluation*) pada Kedua Respon

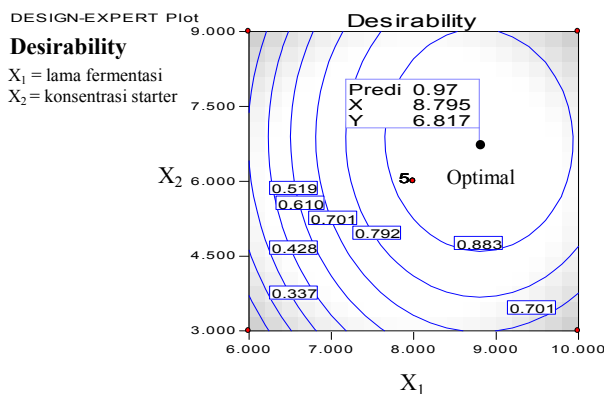
Derajat bebas untuk simpangan dari model (*lack of fit*) adalah 3 dan derajat bebas untuk galat murni adalah 5, hasil ini menunjukkan bahwa desain model sudah baik karena desain yang baik mempunyai minimal derajat bebas kesalahan permodelan 3, dan

derajat bebas untuk galat murni minimal 4. Nilai VIF antara 1-1,02 yang menunjukkan bahwa tidak terjadi multikolinieritas pada variabel-variabel rancangan percobaan, karena sifat multikolinieritas ada apabila nilai VIF > 10. *G-efficiency* pada desain model ini sebesar 73,8% hal ini menunjukkan bahwa desain model sudah baik karena nilai yang diinginkan paling sedikit 50%

Hasil Optimasi Respon (*Solution of Numerical Optimization*) pada Kedua Respon

Metode multirespon disebut sebagai *desirability*. Batasan (*range*) dari *desirability* adalah 0 - 1. Fungsi *desirability* menunjukkan bentangan (batasan) yang didapat pada masing-masing respon. Hasil perhitungan solusi optimal pada penelitian ini didapat *desirability* sebesar 0,974 dan sudah memenuhi syarat bentangan *desirability*, kemudian untuk X_1 adalah 8,795 hari; X_2 adalah 6,817%; konsentrasi β -karoten (Y_b) sebesar 125,2599 ppm; jumlah total spora (Y_s) sebesar 11,3684 log spora/ml.

Gambar 2 memperlihatkan bahwa *desirability* pada respon konsentrasi β -karoten (Y_b) berada lebih rendah daripada respon jumlah total spora (Y_s), hal ini dapat disebabkan karena proses untuk mendapatkan kadar β -karoten dalam penelitian lebih banyak dipengaruhi oleh berbagai faktor selain lama fermentasi dan penambahan jumlah starter. Hasil optimasi akan menunjukkan titik-titik faktor untuk mendapatkan hasil yang optimal.

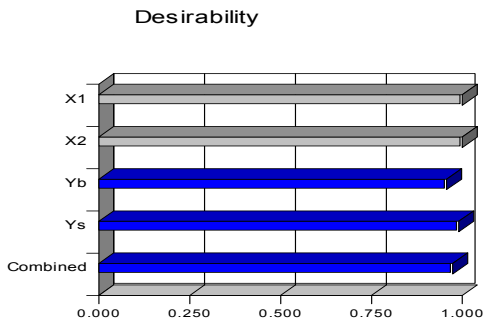


Keterangan:

- X_1 = lama fermentasi (hari)
- X_2 = konsentrasi starter (%)

Bendera (*flag*) menunjukkan keterangan titik optimal yang terletak tepat pada titik (*node*) yang ditunjukkan bendera (*flag*) tersebut

Gambar 1. Kontur *Desirability* Rancangan Percobaan



Gambar 2. Grafik Histogram *Desirability* Rancangan

Keterangan:

- X₁ = lama fermentasi (hari)
- X₂ = konsentrasi starter (%)
- Yb = konsentrasi β-karoten (ppm)
- Ys = jumlah total spora (log spora/ml)
- Combined = kombinasi antara Yb dan Ys

Hasil Optimasi Respon (Solution of Numerical Optimization) pada Respon Konsentrasi β-Karoten

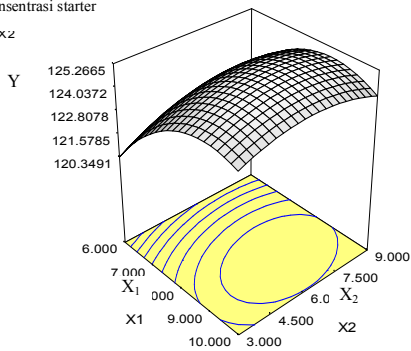
Desain model yang terpilih pada respon ini adalah model kuadratik. Model kuadratik ini juga memiliki standar deviasi terkecil yaitu 0,53 dan memiliki R² yang tertinggi yaitu 95,06% yang menunjukkan bahwa faktor lama fermentasi dan faktor konsentrasi starter pada penelitian memberikan kontribusi dan pengaruh sebesar 95,06% pada keragaman respon konsentrasi β-karoten, sedangkan sisanya sebesar 4,04%

dipengaruhi faktor lain yang tidak dimasukkan dalam model Nilai R sebesar 0,9152 yang berarti menunjukkan adanya korelasi sebesar 0,9152. Korelasi positif yaitu apabila nilai X besar juga diikuti dengan nilai Y yang besar pula, apabila nilai X kecil, maka diikuti pula dengan nilai Y yang kecil pula

Persamaan untuk respon β-karoten adalah sebagai berikut:

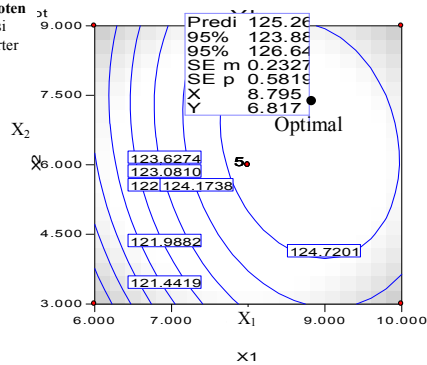
$$Y = 86,18265 + 7,63485 X_1 + 1,67998 X_2 - 0,41042 X_1^2 - 0,086288 X_2^2 - 0,062833 X_1 X_2$$

Konsentrasi β-Karoten
 X₁ = lama fermentasi
 X₂ = konsentrasi starter
 Y = B: XZ



Konsentrasi β-Karoten
 X₁ = lama fermentasi
 X₂ = konsentrasi starter

X = A: X1
 Y = B: X2



Keterangan:

- X₁ = lama fermentasi (hari)
- X₂ = konsentrasi starter (%)
- Y = konsentrasi β-karoten (ppm)

Bendera (*flag*) menunjukkan keterangan titik optimal yang terletak tepat pada titik (*node*) yang ditunjukkan bendera (*flag*) tersebut

Gambar 3. Kurva dan Kontur Permukaan Respon Hubungan Lama Fermentasi (X₁) dan Konsentrasi Starter (X₂) terhadap Respon Konsentrasi β-Karoten (Yb)

Produksi β -karoten terus meningkat seiring dengan konsentrasi starter dan lama fermentasi yang juga bertambah hingga sampai titik tertinggi yaitu sebagai titik optimalnya yaitu 125,2599 ppm dengan lama fermentasi selama 8,795 hari (8 hari 19 jam 4 menit 48 detik) dan konsentrasi starter sebesar 6,817% kemudian mengalami penurunan. Hal ini dapat disebabkan berbagai faktor, diantaranya dapat disebabkan karena nutrisi dan kandungan air pada media sudah mulai habis. Menurut Tannenbaum (1979), turunnya aktivitas air juga menyebabkan degradasi β -karoten. Lama fermentasi dan konsentrasi starter pada media dapat menyebabkan turunnya kadar air akibat adanya pemakaian air yang digunakan *Neurospora sitophila* untuk pertumbuhannya.

Metabolit-metabolit sekunder adalah molekul-molekul yang disintesis oleh beberapa mikroorganisme tertentu, biasanya dilakukan pada akhir siklus pertumbuhannya, meskipun tidak dibutuhkan untuk pertumbuhannya, namun metabolit-metabolit tersebut dapat juga bersifat sebagai nutrisi darurat untuk dapat bertahan hidup. Pigmen merupakan faktor genetik (*genetic factor*) dari Keadaan lingkungan sangat mempengaruhi jalannya metabolisme dan sebaliknya dalam metabolisme ini akan dihasilkan zat-zat metabolit yang juga berpengaruh terhadap keadaan lingkungan sekitarnya. Pembentukan pigmen karotenoid dari kapang *Neurospora sitophila*, juga dapat terbentuk karena adanya proteksi terhadap sinar cahaya nampak dan cahaya UV.

Pigmen dapat terbentuk karena adanya rangsangan cahaya, sehingga konidia membentuk pigmen karotenoid yang berfungsi sebagai alat proteksi diri tetapi pigmen juga dapat teroksidasi karena adanya pengaruh udara, dan sinar matahari turut mengkatalisa terjadinya reaksi ini, oleh karena itu semakin panjang lama fermentasi akan menurunkan kadar β -karoten, Menurut penelitian yang dilakukan oleh Borkovich (1999), sintesis pigmen karotenoid pada kapang *Neurospora crassa* diinduksi oleh sinar biru (*blue light*) yang disinarkan pada miselium, karotenoid juga berfungsi sebagai alat proteksi diri pada faktor oksidasi yang disebabkan oleh radikal

bebas dan juga sebagai alat toleransi pada panas, pada penelitian yang telah dilakukan oleh Borkovich (1999), menunjukkan bahwa pigmen karotenoid melindungi sel dari adanya oksidator yang sengaja diinduksi peneliti, oksidator berupa *hydrogen peroxide* dan *paraquat*, serta beberapa perlakuan panas, *range* panas yang diberikan adalah 40 °C-52 °C. Menurut Renaud, Safe, dan Subden (1976), kapang *Neurospora crassa* memproduksi karotenoid dengan jumlah dan komposisi yang berbeda, pada keadaan gelap dan terang cahaya, pada gelap cahaya hanya fitoena yang dihasilkan, sedangkan pada terang cahaya yang dihasilkan adalah fitoena, fitofluena, 5-karoten, neurosporena, likopen, β -karoten, torulena, 3,4-dehidro likopen, dan neurosporasantin.

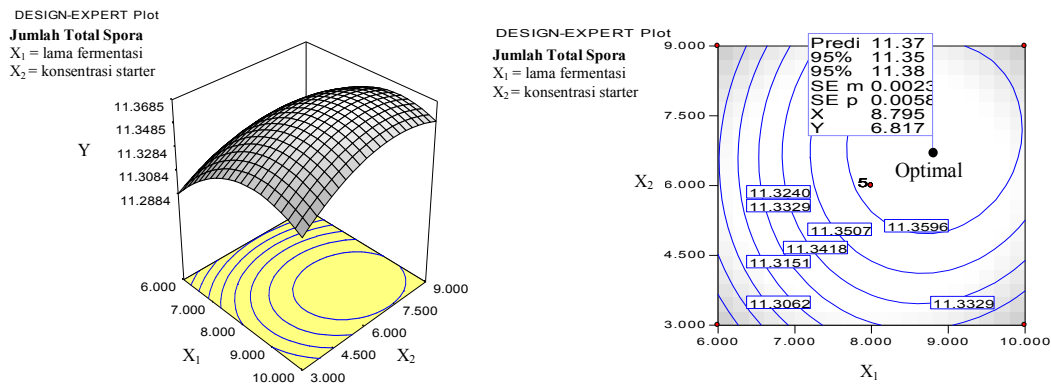
Hasil Optimasi Respon (*Solution of Numerical Optimization*) pada Respon Jumlah Total Spora

Desain model yang terpilih pada model ini adalah model kuadrat Model kuadrat ini juga memiliki standar deviasi terkecil yaitu 0,005374 dan memiliki R^2 yang tertinggi yaitu 98,28% yang menunjukkan bahwa faktor lama fermentasi dan faktor konsentrasi starter pada penelitian memberikan kontribusi dan pengaruh sebesar 98,28% pada keragaman respon konsentrasi β -karoten, sedangkan sisanya sebesar 1,72% dipengaruhi faktor lain yang tidak dimasukkan dalam model. Nilai R sebesar 0,9705 yang berarti menunjukkan adanya korelasi positif sebesar 0,9705. Korelasi positif yaitu apabila nilai X besar juga diikuti dengan nilai Y yang besar pula, apabila nilai X kecil, maka diikuti pula dengan nilai Y yang kecil pula.

Persamaan untuk respon jumlah spora adalah sebagai berikut:

$$Y = 10,77813 + 0,11552 X_1 + 0,023106 X_2 - 6,85906 \cdot 10^{-3} X_1^2 - 2,13736 \cdot 10^{-3} X_2^2 + 7,79167 \cdot 10^{-4} X_1 X_2$$

Tujuan dari proporsi starter yang optimal adalah agar fase adaptasi (*lag*) dalam media fermentasi yang baru dapat seminimal mungkin dan agar proses fermentasinya berlangsung cepat sehingga dapat memperpendek waktu dalam pencapaian produk yang optimal.



Keterangan:

- X₁ = lama fermentasi (hari)
- X₂ = konsentrasi starter (%)
- Y = konsentrasi β-karoten (ppm)

Bendera (*flag*) menunjukkan keterangan titik optimal yang terletak tepat pada titik (*node*) yang ditunjukkan bendera (*flag*) tersebut

Gambar 4. Kurva dan Kontur Permukaan Respon Hubungan Lama Fermentasi (X₁) dan Konsentrasi Starter (X₂) terhadap Respon Jumlah Total Spora (Ys)

Titik optimal pembentukan jumlah spora sebesar 11,3684 log spora/ml dicapai pada titik lama fermentasi selama 8,795 hari dan konsentrasi starter sebesar 6,817%. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi kompetisi atau perebutan makanan pada medium fermentasi karena tiap individu sel *Neurospora sitophila* membutuhkan nutrisi untuk lebih dari 6,817% telah terjadi persaingan (kompetisi) untuk mendapatkan makanan atau nutrisi yang ada pada media, karena jumlah nutrisi tidak cukup seimbang untuk memenuhi kebutuhan dari tiap spora yang akan tumbuh. Titik optimal pembentukan spora sebanyak 11,3684 log spora/ml terjadi karena lama fermentasi selama 8,795 hari dan konsentrasi starter yang ditambahkan yaitu 6,817% mampu tumbuh dan berkembang dengan seimbang dan baik dengan adanya ketersediaan nutrisi pada media dan cukup untuk menunjang perkembangannya, tetapi nutrisi yang tersedia pada media tidak mencukupi untuk semua sel *Neurospora sitophila* untuk tumbuh, sehingga nutrisi pada media banyak terpakai pada saat fase adaptasi, akibat dari hal itu, pada saat fase log tidak banyak jumlah spora yang

terbentuk dan berakibat pada pembentukan β-karoten juga.

Menurut Wainwright dan McVeigh (1976), Hank dan Sussman (1969), dan Murayama dan Ishikawa (1973), pembentukan spora dalam jumlah besar terjadi pada masa pertumbuhan statis antara 5 dan 7 hari fermentasi pada kapang *Neurospora sp.* pada penelitian ini pembentukan β-karoten yang optimal terjadi pada hari ke-8,795 hari, berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa masa pertumbuhan statis sudah terjadi pada rentang hari ke-7, dilihat pada kontur respon jumlah total spora, pada rentang hari ke-8 dan hari ke-9 jumlah spora adalah 11,3507 log spora/ml; 11,3596 log spora/ml; dan terus berlangsung stabil hingga pada titik optimal yaitu 11,3684 log spora/ml; sedangkan pada hari ke-6 hingga ke-7 jumlah spora terus bertambah mulai dari 11,3062 log spora/ml; 11,3151 log spora/ml; 11,3240 log spora/ml; 11,3329 log spora/ml; dan 11,3418 log spora/ml ini dapat disimpulkan bahwa pada saat itu *Neurospora sitophila* sedang dalam masa pertumbuhan log.

Pemanfaatan *Neurospora sitophila* sebagai Alternatif Produksi β -Karoten

Penggunaan ampas tahu sebagai media pertumbuhan yang murah dan mudah didapatkan, waktu produksi β -karoten yang relatif cepat, dan pengembangbiakannya yang tidak membutuhkan tempat yang luas dapat dijadikan pertimbangan untuk menjalankan suatu industri berbasis bioindustri atau lebih khususnya adalah teknologi fortifikasi dengan memanfaatkan *Neurospora sitophila* sebagai alternatif produksi β -karoten. Menurut Hariyadi (2000), fortifikasi mempunyai arti khusus, yaitu penambahan zat gizi dalam jumlah yang cukup besar pada suatu produk pangan, sedemikian rupa sehingga produk tersebut dapat berfungsi sebagai sumber utama yang baik bagi zat gizi yang ditambah, terutama bagi masyarakat target yang telah ditentukan.

Tujuannya adalah menformulasikan suatu produk pangan kaya akan vitamin atau sumber gizi yaitu β -karoten. β -karoten banyak ditambahkan pada produk pangan karena diyakini adanya manfaat kesehatan antara konsumsi vitamin antioksidan tersebut dengan berbagai penyakit kronis. β -karoten dikenal sebagai zat antioksidan yang dapat merangsang

sistem imun tubuh untuk melawan radikal bebas yang membentuk karsinogen (substansi yang dapat menimbulkan kanker).

Menurut Winarno (1997), satuan takaran untuk vitamin A yang digunakan adalah *International Unit* (IU) atau Satuan Internasional (SI), takaran bisa juga dengan satuan *Retinol Equivalent* (RE).

- 1 RE = 1 μ g retinol (3,33 IU)
- 1 RE = 6 μ g β -karoten (10 IU)
- 1 RE = 12 μ g karotenoid (10 IU)

Hasil penelitian menghasilkan konsentrasi β -karoten sebesar 125,2599 ppm, apabila dikonversikan kedalam satuan Satuan Internasional (SI) adalah sebagai berikut:

$$1 \text{ mg} = 1000 \mu\text{g}$$

$$125,2599 \text{ ppm} = 125,2599 \text{ mg/l} = 125259,9 \mu\text{g/l} = 208766,5 \text{ SI/l}$$

Jumlah kebutuhan vitamin A yang dianjurkan bagi orang dewasa, pemuda, atau gadis berumur 13-20 tahun adalah 5000 SI per hari, sedangkan untuk bayi dan anak-anak di bawah 10 tahun 1200-2400 SI per hari. Wanita menyusui mempunyai kebutuhan vitamin A lebih tinggi yaitu 8000 SI per hari, sedangkan wanita hamil adalah 6000 SI per hari (Suhardjo dan Kusharto, 1992).

Tabel 2. Beberapa Contoh Data β -Karoten dengan Analisis β -Karoten Menggunakan Pelarut Etanol 96% yang Didapat dari Tanaman

Kode Peneliti	Jumlah β -Karoten	Sumber	Persentase Perbandingan β -Karoten dari <i>Neurospora sitophila</i>
A	81,8977 ppm	Sari wortel instan	34,62% lebih tinggi
B	0,5330 ppm	Daun ubi jalar	99,57% lebih tinggi
B	46,9700 ppm	Konsentrat daun ubi jalar	62,50% lebih tinggi
C	14,4600 ppm	Wortel kering	88,46% lebih tinggi
C	8,8300 ppm	Permen wortel	92,95% lebih tinggi
D	40,3900 ppm	Limbah kulit kakao segar	67,76% lebih tinggi

Keterangan: Sebagai perbandingan hasil penelitian = 125,2599 ppm

- A = Septinawati
- B = Setyobudi
- C = Wideasari
- D = Wulan

Sumber: Septinawati (2001), Setyobudi (2001), Wideasari (2000), Wulan (2001)

Lama fermentasi pada skala laboratorium adalah selama 8,795 hari dan konsentrasi starter sebesar 6,817% dan

konsentrasi β -karoten yang dihasilkan adalah 125,2599 ppm, tetapi untuk mempermudah pelaksanaan produksi apabila diterapkan pada

industri, dilakukan lama fermentasi selama 9 hari dan konsentrasi starter sebesar 6,8%, pada kedua titik ini hasil konsentrasi β -karoten didapatkan sebesar 125,2408 ppm dan jumlah total spora sebesar 11,3682 log spora/ml.

. Hasil konsentrasi β -karoten ini lebih rendah daripada hari ke-8,795 dan konsentrasi starter sebesar 6,824% sebagai titik optimalnya, tetapi tidak terlalu nyata (*significant*), karena selisihnya hanya 0,0191 ppm atau 31,8333 SI/l.

Kelebihan pada produksi β -karoten dari kapang *Neurospora sitophila* antara lain adalah:

1. Produk β -karoten apabila berasal dari tanaman harus menunggu selama beberapa bulan untuk mendapatkan bahan baku yang nantinya akan diolah menjadi berbagai produk, seperti permen wortel dan sari wortel instan. Lama pemanenan dari tanaman, contohnya adalah ubi jalar dan wortel, untuk mendapatkan ubi jalar dan wortel kurang lebih selama 6 bulan, jika memakai kapang *Neurospora sitophila* hanya menunggu selama 8,795 hari dan mendapatkan produk β -karoten yang optimal.
2. Produksi β -karoten dari kapang *Neurospora sitophila* tidak tergantung dari iklim, cuaca, dan kondisi tanah seperti pada sumber tanaman. Medium pertumbuhan dan nutrisi tambahan untuk kapang *Neurospora sitophila* dapat diatur sesuai dengan kondisi medium optimalnya.
3. Kapang *Neurospora sitophila* pada penerapan industri dapat dijadikan alternatif untuk mendapatkan β -karoten karena tempat produksi β -karoten lebih sempit (tidak memakan banyak tempat) dan tidak membutuhkan peralatan yang besar dan berat apabila dibandingkan dengan tempat produksi β -karoten dengan sumber dari tanaman, karena membutuhkan lahan yang luas dan membutuhkan peralatan yang besar dan berat. Hal ini dapat menunjukkan bahwa biaya operasional produksi β -karoten dari kapang *Neurospora sitophila* lebih rendah daripada biaya operasional produksi β -karoten dengan sumber dari tanaman dan dapat memproduksi kadar β -karoten yang

cukup tinggi.

Kelemahan pada produksi β -karoten dari kapang *Neurospora sitophila* antara lain adalah:

1. Kondisi dari tempat produksi merupakan faktor yang cukup penting dalam proses produksi β -karoten. Sanitasi dari ruangan dan pengkondisian agar kapang *Neurospora sitophila* benar-benar mendominasi pada ruangan tersebut merupakan faktor yang sangat penting dalam memproduksi β -karoten, sehingga produksi β -karoten dari kapang *Neurospora sitophila* membutuhkan ruangan khusus untuk tempat pertumbuhannya dalam memproduksi β -karoten.
2. Pigmen karotenoid dari kapang *Neurospora sitophila* rentan terhadap terjadinya fotooksidasi yang dapat menyebabkan turunnya kadar β -karoten, sehingga dibutuhkan penanganan khusus (*special treatment*) dan pengkondisian khusus (*special condition*) yang memungkinkan terjadinya fotooksidasi yang dapat menurunkan kadar β -karoten seminimal mungkin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian, maka dapat diambil kesimpulan yaitu produksi β -karoten dari *Neurospora sitophila* dengan menggunakan ampas tahu dan tambahan nutrisi (berupa glukosa dan *yeast extract*) mengikuti model:

$$Y = 86,18265 + 7,63485 X_1 + 1,67998 X_2 - 0,41042 X_1^2 - 0,086288 X_2^2 - 0,062833 X_1 X_2$$

$$R^2 = 95,06\%$$

Jumlah total spora dari *Neurospora sitophila* mengikuti model:

$$Y = 10,77813 + 0,11552 X_1 + 0,023106 X_2 - 6,85906 \cdot 10^{-3} X_1^2 - 2,13736 \cdot 10^{-3} X_2^2 + 7,79167 \cdot 10^{-4} X_1 X_2$$

$$R^2 = 98,28\%$$

Optimasi produksi β -karoten tercapai sebesar 125,2599 ppm dan jumlah total spora sebesar 11,3684 log spora/ml dengan lama fermentasi (X_1) selama 8,795 hari dan konsentrasi starter (X_2) sebesar 6,817%.

Saran

Saran-saran yang bisa diberikan adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang faktor-faktor eksternal (cahaya, oksigen, suhu, nutrisi tambahan, dll) yang dapat mempengaruhi meningkatnya produksi β -karoten dari kapang *Neurospora sitophila*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengemasan starter (dikondisikan pada kondisi dorman) agar starter dapat disimpan dalam jangka waktu yang relatif panjang dan membentuk produk β -karoten dengan baik (cepat mencapai fase log pada saat tumbuh di media baru).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih pada Direktorat Jenderal Dikti yang telah memberikan dana penelitian melalui Penelitian Hibah Bersaing Perguruan Tinggi X yang berjudul “Optimasi Produksi dan Ekstraksi β -Karoten dari Mikroorganisme untuk Pemenuhan Asupan Vitamin A pada Anak Melalui Makanan dan Minuman Ringan”, sehingga artikel proyek dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N. dan S. Koswara. 1992. **Kimia Vitamin**. Pusat Antar Universitas–Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Rajawali. Jakarta
- AOAC. 1980. **Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemistry**. Horwitz, Franklin, Benjamin Cor. Washington. USA
- Borkovich, Katherine A. 1999. **Mutational Activation of G_{ai} Causes Uncontrolled Proliferation of Aerial Hyphae and Increased Sensitivity to Heat and Oxidative Stress in *Neurospora crassa***. Department of Microbiology and Molecular Genetics, University of Texas, Houston Medical School. Houston
<http://www.genetics.org/cgi/content/full/151/1/107>
- Fardiaz, S. 1989. **Mikrobiologi Pangan**. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hadioetomo, R.S. 1990. **Mikrobiologi Dasar dalam Praktek**. PT Gramedia. Jakarta
- Hanks, D.L. and A. S. Sussman. 1996. **The Relation Between Growth, Conidiation and Trehalase Activity in *Neurospora crassa***. American Journal of Botany. Vol. 56 (10) : 1152-1159
- Hariyadi, Purwiyatno. 2000. **Fortifikasi Vitamin A dan β -Karoten**. Buletin Teknologi dan Industri Pangan Vol. XI (1). Pusat Studi Pangan dan Gizi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Hestiningrum, Fatmahdyah. 2003. **Penentuan Produksi β -Karoten dari Kapang *Neurospora* sp. pada Ampas Tapioka (Onggok) Menggunakan Analisis Regresi (Kajian Penambahan Limbah Cair Tahu dan Air Rendaman Kedelai)**. Skripsi. Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Linder, M.C. 1992. **Biokimia Nutrisi dan Metabolisme**. Universitas Indonesia. Jakarta
- Murayama, T. dan T. Ishikawa. 1973. **Pengolahan hasil Pertanian**. Fatemeta Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Pramono, Sri Utami. 1988. **Petunjuk Laboratorium : Mikologi Veteriner**. Pusat Antar Universitas (Bekerja sama dengan Lembaga Sumberdaya Informasi). Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Renaud, R., S. Safe, and R. Subden. 1976. **Free and Bound Lipids of *Neurospora crassa***. Phytochemistry. Vol. 15 : 977-979

- Sa'id, E. G. **Bioindustri Penerapan Teknologi Fermentasi**. PT. Mediyatama Sarana Perkasa. Jakarta
- Septinawati, N. 2001. **Pembuatan Sari Wortel Instan Menggunakan Metode Foam Mat Drying (Kajian Lama Blanching dan Konsentrasi Dekstrin serta Analisis Break Event Point (BEP) dan Pay Back Periods (PP))**. Skripsi. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Setyobudi, S. I. 2001. **Pemanfaatan Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L.*) sebagai Sumber β -karoten (Kajian Waktu Perendaman dan Pemilihan Varietas terhadap Kadar β -Karoten)**. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 1989. **Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian**. Liberty. Yogyakarta
- Suhardjo dan C. M. Kusharto. 1992. **Prinsip-prinsip Ilmu Gizi**. Kanisius. Yogyakarta
- Sulaiman, A., F. Anwan, Rimbawan, dan S. A. Marliyati. 1995. **Metode Analisis Zat Gizi dan Komponen Kimia Lainnya dalam Makanan**. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Tannenbaum, S. 1979. **Vitamins and Minerals**. AVI Publishing Company. Inc. New York
- Wainwright, R. R., and I. Mc Veigh. 1976. **Requirements of Two Temperature Sensitive Mutant Strains of *Neurospora crassa* for Growth at Elevated Temperatures**. American Journal of Botany. Vol. 54 (5) : 585-588. New York
- Widiasari, E. 2000. **Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat dan Gelatin terhadap Beberapa Sifat Fisik, Kimia, dan Organoleptik Permen Wortel**. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- Winarno, F. G. 1997. **Kimia Pangan dan Gizi**. PT. Gramedia. Jakarta
- Wulan, S. N. 2001. **Kemungkinan Pemanfaatan Limbah Kulit Kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai Sumber Zat Pewarna (β -Karoten)**. Jurnal Teknologi Pertanian, Vol. 2 (2) : 22-29