

Kajian Potensi Penggunaan Bioreaktor terhadap Senyawa Ajmalisin Suatu Contoh Produksi Metabolit Sekunder Tanaman Obat

Ratih Dian Saraswati

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan

Badan Litbangkes Kemenkes RI

email : ratih_dian@litbang.depkes.go.id

Abstract

*The limited availability of medicinal plants as well as their limitations in cultivation as a source of medicinal compounds can lead to excessive harvesting, habitat destruction and destructive exploration. This led to the extinction of rare plants and caused the condition of natural resources worse. The purpose of this study is to elucidate the potential of bioreactor in terms of its ability to increase the active compounds of plant obtained from *C. roseus*, ajmalicine. The data was obtained from various references. The main references discuss about ajmalicine and bioreactor. In general, the concentration of compounds produced by cell suspension is higher than its original concentration in the plants. In study cases of ajmalicine, the compounds were produced as much as seven times more than these compounds in native plants. Other studies show that the use of different plant organs, the addition of elicitor, the weight of initial cells as well as aeration rate can affect the concentration of ajmalicine obtained from medium in the bioreactor. Tissue cultured plants in bioreactor can produce secondary metabolites in a short time with high yields. However, previous optimization should be carried out in terms of adding elicitor, aeration rate and pH condition of the bioreactor.*

Keywords : *Bioreactor, Ajmalicine, C. roseus*

Pendahuluan

Senyawa bahan obat merupakan hal penting dalam farmakoterapi modern. Senyawa tersebut dapat diekstraksi dari sumber hayati maupun di sintesis secara kimia. Senyawa yang diekstraksi dari bahan alam memiliki keunggulan berupa sifat keanekaragaman struktur kimia yang tinggi, spesifitas biokimia dan sifat-sifat molekul yang lebih baik dibandingkan hasil sintesis. Hal ini menyebabkan senyawa bahan alam sebagai struktur pengarah lebih disukai¹. Walaupun demikian, tidak semua senyawa bahan obat dapat dengan mudah diekstrak atau di sintesa, misalnya artemisinin, sebuah

senyawa aktif yang diperoleh dari tanaman *Artemisia annua* (L.). Selain sulit disintesa, senyawa ini pun terkandung dalam tanaman hanya dalam jumlah kecil berkisar 0,1-0,4%². Keterbatasan ketersediaan serta hambatan budidaya tanaman obat merupakan hal yang dapat memicu panen yang berlebihan, perusakan habitat, serta eksplorasi yang merusak dapat menyebabkan punahnya tanaman langka serta memperburuk kondisi sumber daya alam³.

Tanaman mampu mensintesa bahan kimia organik alami dengan struktur yang sangat beragam dan secara umum disebut metabolit sekunder. Beberapa yang termasuk metabolit sekunder adalah alkaloid, antibiotika, minyak (*volatile oils*), resin,

tanin, glikosida, sterol dan saponin. Peran metabolit sekunder pada tanaman sebagai pelindung dari patogen, serangga, berbagai jenis pemakan tumbuhan lainnya serta dari cuaca yang ekstrem⁴. Tanaman yang ada dalam kondisi stress, menghasilkan metabolit sekunder lebih banyak dibandingkan tanaman yang ada dalam kondisi terjaga atau tanaman budidaya. Hal ini merupakan salah satu tantangan dalam upaya budidaya tanaman obat, agar dihasilkan jumlah yang banyak namun tidak mengurangi efek tanaman tersebut sebagai tanaman obat⁵. Metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman berguna untuk obat-obatan, insektisida, pengharum, pemberi rasa, bahan pewarna serta fungsi lainnya. Meskipun strukturnya sangat bervariasi, metabolit sekunder terbentuk dari beberapa prekursor yaitu asetat, fenil propanoid, isopentenil difosfat dan beberapa asam amino^{6,7,8}. Ajmalisin suatu metabolit sekunder yang dihasilkan dari *C. roseus* (tapak dara) merupakan senyawa golongan alkaloid indol. Ajmalisin biasanya digunakan untuk pengobatan anti-hipertensi⁹.

Metabolit sekunder dapat juga dihasilkan pada tanaman yang ditumbuhkan melalui kultur jaringan. Dengan metoda kultur jaringan, hanya sedikit saja diperlukan jaringan tanaman asal, dan kemudian jaringan tersebut dapat diperbanyak dalam waktu singkat. Produksi metabolit sekunder dapat ditingkatkan dengan mengkultur jaringan tersebut dalam bioreaktor¹⁰.

Bioreaktor adalah suatu alat atau sistem berbentuk bejana yang dapat mendukung aktivitas agensia biologis. Bioreaktor yang digunakan biasanya terbuat dari bahan yang tidak bereaksi dengan aktivitas biokimia yang terjadi di dalam bioreaktor seperti gelas atau stainless steel⁸. Kultur sel *Lithospermum*

erythrorizon, suatu tanaman penghasil sikonin, dalam bioreaktor mampu menghasilkan 14% berat kering sikonin dalam waktu tiga minggu, jauh lebih cepat dan banyak dibanding sikonin yang dihasilkan dari tanaman asalnya yang sebanyak 1-2% berat kering¹¹.

Oleh karena itu untuk memperoleh metabolit sekunder dalam waktu singkat dan hasil optimal perlu mengkaji mengenai bioteknologi tumbuhan sehingga dapat mengurangi ketergantungan bahan baku yang berasal dari alam.

Metode

Metoda yang digunakan dalam kajian ini adalah telaah referensi dari berbagai sumber. Referensi utama yang digunakan berasal dari tiga makalah yang berasal dari tiga jurnal yang membahas mengenai ajmalisin dan bioreaktor. Pengembangan pencarian referensi selanjutnya adalah mencari referensi yang berkaitan dengan bioreaktor, tanaman obat dan metabolit sekunder. Penelitian mengenai ajmalisin ini melibatkan penggabungan bioteknologi, yaitu kultur jaringan tanaman serta bioreaktor.

Makalah utama yang digunakan membahas mengenai kultur *C. roseus* dalam bioreaktor. Cara kerja, tanaman *C. roseus* di tumbuhkan secara kultur jaringan, lalu eksplan yang telah tumbuh dalam medium diberi perlakuan berupa pemberian elisitor atau dimasukan dalam bioreaktor. Bioreaktor yang digunakan terbuat dari bahan gelas sehingga tidak akan mengganggu proses biokimia yang sedang berlangsung. Dalam bioreaktor terdapat sejumlah komponen, di antaranya tangki, saringan halus atau *baffle*, *sparger*, *impeller* dan sensor untuk mengontrol parameter. Tangki berfungsi untuk menampung campuran substrat, sel mikroorganism, serta produk. Komponen pen-

ting yang harus ada di dalam bioreaktor adalah sensor, berfungsi sebagai pengontrol beberapa parameter. Parameter-parameter yang dimaksud, antara lain suhu, kecepatan aliran, tekanan, derajat keasaman (pH), kadar oksigen, dan perubahan komposisi medium^{12,13}.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian mengenai cara memproduksi kandungan senyawa aktif tanaman telah banyak dilakukan. Namun makalah yang membahas mengenai penggunaan bioreaktor dalam meningkatkan kandungan senyawa suatu bahan alam masih sedikit. Sebagian besar penelitian tersebut menggunakan kultur suspensi sebagai bentuk yang paling intensif yang digunakan dalam penelitian.

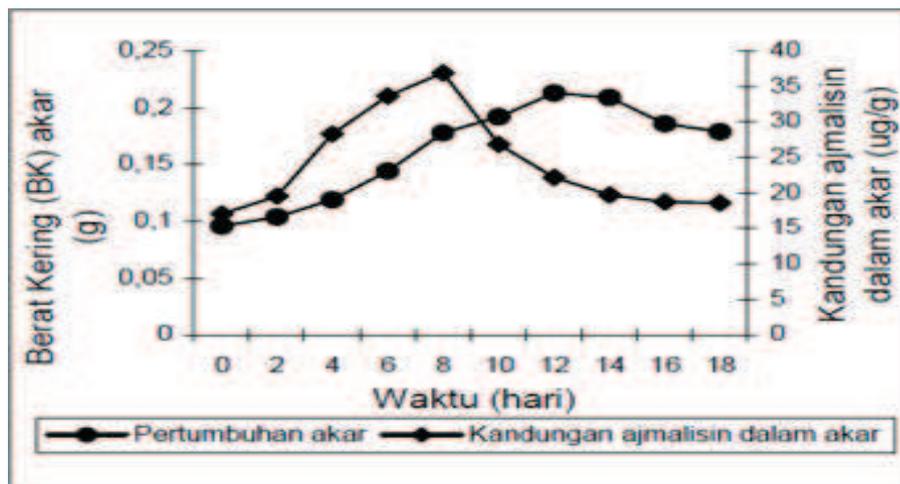
Tabel 1 memperlihatkan perbandingan perolehan metabolit sekunder masing-masing tanaman jika di isolasi dari tanaman aslinya dan jika di peroleh dari suspensi sel. Terlihat bahwa konsentrasi metabolit sekunder tanaman secara umum lebih tinggi terdapat pada suspensi sel untuk jenis metabolit dan tanaman yang sama. Ajmalisin yang merupakan senyawa aktif *C. roseus* konsentrasinya kurang lebih 7 kali lebih banyak pada suspensi sel dibandingkan dengan konsentrasi pada tanaman aslinya. Oleh karena itu sementara dapat disimpulkan bahwa produksi metabolit sekunder dapat ditingkatkan melalui kultur suspensi sel. Produksi senyawa dari *C. roseus* menggunakan kultur jaringan menghasilkan jenis senyawa yang sama dengan senyawa yang terdapat pada tanaman asalnya.

Tabel 1. Beberapa senyawa yang dihasilkan oleh suspensi sel pada konsentrasi yang lebih tinggi dari yang dihasilkan oleh tanaman aslinya¹⁴.

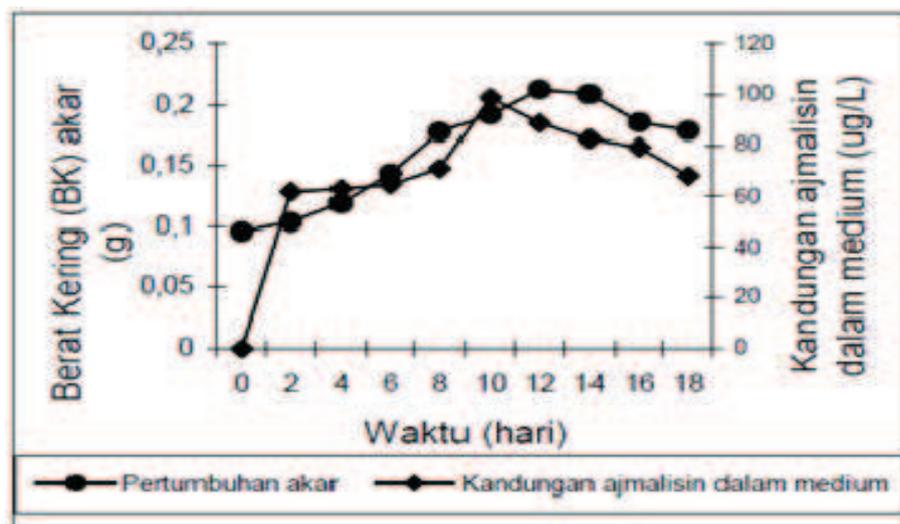
Senyawa	Tanaman	Konsentrasi pada Suspensi Sel (% berat kering)	Konsentrasi padaTanama Aslinya (% berat kering)
Glutathion	<i>Nicotiana tabacum</i>	1,0	0,1
Nikotin	<i>Nicotiana tabacum</i>	5,0	2,1
Antrakuinon	<i>Morinda citrifolia</i>	18	2,2
Asamrosmarinat	<i>Coleus blumei</i>	15,0	3,0
Ajmalisin	<i>Catharanthus roseus</i>	2,2	0,3
Serpentin	<i>Catharanthus roseus</i>	1,8	0,5
Diosgenin	<i>Dioscorea deltoidea</i>	3,5	2,0
Ginsenosida	<i>Panax ginseng</i>	27	4,1
Shikonin	<i>Lithospermum erythrorhizo</i>	14	1,5
Benzilisokuinolin	<i>Captis japonica</i>	11	5-10
Berberin	<i>Captis japonica</i>	10	2-4
Antrakuinon	<i>Cassia tora</i>	6	0,6
Biskoklaurin	<i>Stephania cepharantha</i>	2,3	0,8
Saponin	<i>Panax ginseng</i>	2,2	0,5
Valtrat	<i>Fedia cornucopiae</i>	1,4	0,6
Ubikuinon-10	<i>Nicotiana tabacum</i>	0,5	0,003
Triptiolida	<i>Tripterygium wilfordii</i>	0,05	0,001

Di bawah ini terdapat 3 buah grafik yang memperlihatkan perbandingan kadar ajmalisin di dalam akar *C. roseus*. Gambar 1 menunjukkan perolehan ajmalisin dari akar *C. roseus*. Ajmalisin tertinggi diperoleh sebanyak 40 $\mu\text{g/g}$ pada hari ke-8 setelah tanam. Grafik memperlihatkan

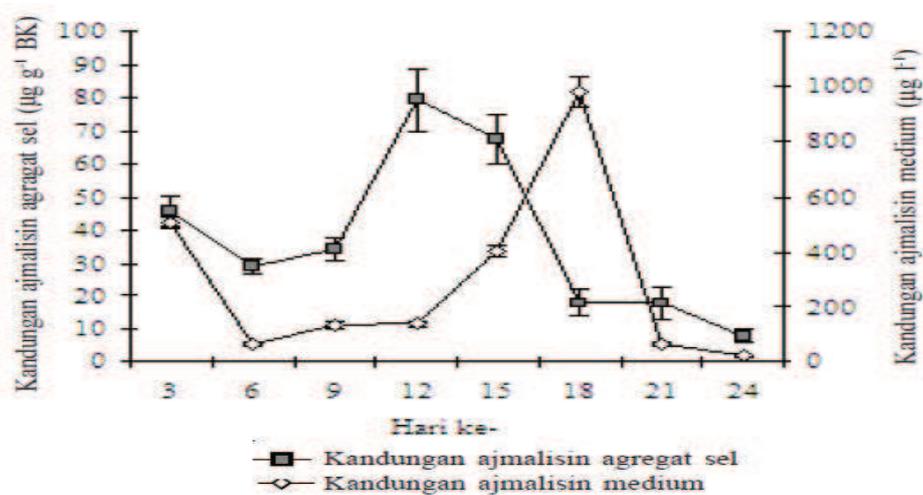
kecenderungan ajmalisin yang terkandung dalam akar berbanding terbalik dengan pertumbuhan akar. Artinya semakin lama tanaman di tanam dan berat kering akar yang diperoleh semakin besar, ajmalisin yang dihasilkan semakin menurun.



Gambar 1. Hubungan pertumbuhan akar dengan kandungan Ajmalisin dalam akar *C. roseus*⁹



Gambar 2. Hubungan pertumbuhan akar dengan kandungan Ajmalisin dalam medium kultur akar *C. roseus*⁹



Gambar 3. Kandungan Ajmalisin pada agregat sel dan medium kultur kalus *C. roseus*. Berat agregat awal sel 30 g, laju aerasi 0,34L menit⁻¹ ¹⁵

Sedangkan pada Gambar 2 memperlihatkan kandungan ajmalisin yang di peroleh dari kultur akar dalam bioreaktor. Konsentrasi tertinggi ajmalisin yaitu 100 µg/L. Grafik memperlihatkan kecenderungan yang sama antara pertumbuhan akar dengan konsentrasi ajmalisin yang terdapat dalam suspensi sel.

Dari Gambar 1 dan Gambar 2 dapat terlihat perbedaan kadar ajmalisin dari akar dan dalam medium cair bioreaktor. Dalam medium cair kadarnya mencapai 100 µg/L atau mengalami peningkatan dibandingkan dengan kadar ajmalisin dalam akar yaitu 40 µg. Artinya terjadi peningkatan sebanyak 2,5 kali. Hasil ini kurang lebih sama dengan yang ditampilkan dalam tabel 1 yang menyebutkan terjadi peningkatan kadar ajmalisin dalam suspensi sel dibanding pada tanaman asalnya.

Penelitian lain (Gambar 3) memperlihatkan perbandingan kadar ajmalisin pada agregat sel yang berasal dari akar *C.*

roseus dengan kadar ajmalisin pada medium cairnya di dalam bioreaktor. Terlihat pada hari ketiga kultur agregat sel *C. roseus* pada bioreaktor sudah terdeteksi adanya ajmalisin. Peningkatan produksi ajmalisin dalam medium terjadi pada hari ke 18 (1000 µg/L). Jika dibandingkan dengan ajmalisin dalam agregat sel, hanya diperoleh 80 µg/g berat kering agregat sel.

Dari hasil tersebut, produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan dan bioreaktor memperlihatkan hasil yang cukup baik. Bioreaktor memiliki banyak keuntungan untuk kultivasi sel tumbuhan, yaitu memberikan kontrol yang lebih baik untuk produksi senyawa bioaktif skala besar pada kultur suspensi sel dan memungkinkan pengaturan kondisi secara konstan pada setiap fase. Selain itu penanganan kultur seperti inokulasi atau pemanenan lebih mudah dan menghemat waktu¹⁵.

Beberapa kendala dalam penggunaan bioreaktor untuk produksi metabolit

stabilan jumlah produk yang dihasilkan ketika skala percobaan berubah dari tahap kecil (skala erlenmeyer) ke skala besar (penggunaan bioreaktor dengan kapasitas besar) hal ini disebabkan adanya perbedaan kondisi meliputi keasaman (pH), suhu, cahaya, serta aerasi dan agitasi kultur. Pada bioreaktor skala besar diperlukan input daya yang besar untuk mentransfer oksigen dalam jumlah yang cukup ke dalam sel tanaman. Sel yang rapuh, yang merupakan suatu efek dari kultur jaringan membatasi kecepatan agitasi atau pengadukan. Hal ini menyebabkan terbatasnya sekresi produk ke dalam medium^{13,16}. Oleh karena itu diperlukan suatu desain yang tepat untuk sebuah bioreaktor skala besar sesuai dengan kondisi fisiologis dan morfologis tanaman. Pada umumnya tanaman menyimpan metabolitnya secara intrasel, oleh karena itu diperlukan beragam cara untuk merangsang tanaman mengeluarkan produknya ke dalam medium. Salah satu cara yang biasa digunakan adalah penambahan elisitor. Elisitor yang digunakan jenisnya bermacam-macam misalnya mikroba ataupun sinar UV, logam berat dll. Prinsipnya kerjanya seperti patogen pada tanaman menyebabkan tanaman menginduksi fitoaleksin, sejenis antibiotika pada tanaman. Hal ini seringkali merangsang sel untuk mensintesis metabolit sekunder lain yang bukan fitoaleksin. Elisitor merangsang pada level enzimatik untuk mengkatalis agar terjadi reaksi biokimia yang diinginkan¹⁷. Permasalahan tadi menyebabkan ongkos produksi awal yang tinggi, berkaitan dengan tahap optimalisasi bioreaktor dengan kultur tanaman yang diinginkan.

Kesimpulan

1. Jaringan tanaman *C. roseus* yang ditumbuhkan melalui kultur jaringan dan di kultur dalam bioreaktor dapat

menghasilkan senyawa khususnya ajmalisin dalam jumlah banyak dan waktu yang singkat yakni 1000 µg/L dalam waktu 3 hari.

2. Bioreaktor yang digunakan harus dilakukan optimalisasi dalam hal penambahan elisitor, laju aerasi, pH dsb untuk menghasilkan senyawa yang optimal.

Daftar Rujukan

1. Kardono, L.B. Sugeng., Pengembangan Bahan Baku Obat Berbasis Sumber Daya Hayati. Orasi Pengukuhan Profesor Riset Bidang Kimia Organik. LIPI. Jakarta. 2009
2. Isnawati, Ani. Pengembangan Metoda Isolasi Untuk Mendapatkan Kadar Artemisinin Yang Optimal Guna Menuju Kemandirian Bahan Baku Obat Malaria. Laporan Akhir Penelitian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi Badan Litbangkes. Jakarta. 2006
3. WHO. 2008. *Traditional Medicine. Fact sheet No.134*<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>. Diakses tanggal 5 Mei 2011
4. Dodds, John H., Lorin W. Roberts., *Experiment in Plant Tissue Culture. 2nd Ed. Cambridge University Press. Cambridge. 1985*
5. Macaskill, Craig., *The National Agricultural Directory 2011. RainbowSA.*
6. <http://www.weizmann.ac.il/plants/aharoni/PlantMetabolomeCourse/May022007.pdf>
7. Schultz, Jack. Secondary Metabolites in Plants<http://www.biologyreference.com/Re-Se/Secondary-Metabolites-in-Plants.html>
8. Indrayanto, Gunawan. 2010. Prospek Kultur Jaringan Tanaman Untuk Produksi Kimia Bahan Alam.<http://garuda.dikti.go.id/jurnal/detail/id/2:11823/q/bioreaktor%20tanaman%20obat/offset/0/limit/3>. Diakses tanggal 5 Mei 2011.
9. Mukarlina, R.R. Esyanti, Arbayah H. Siregar. Pengaruh Pemberian Elisitor Homogenat Jamur *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. Terhadap Kandungan Ajmalisin dalam Kultur Akar *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Jurnal Matematika dan Sains*, 2006, Volume 11, No.2, 44-49
10. Radji, Maksum. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2005, Volume 2, No.3, 113-126
11. *Revolusi Bioteknologi*, Ed. Jean L. Marx. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta. 1991

12. Hay. Diaplikasikan di Pelbagai Bidang Kehidupan. Koran Jakarta, http://www.ristek.go.id/file/upload/Referensi/2010/digital_clipping/Klipping%20Berita%20Iptek%2013-11-2010.pdf. Hal 10/22. Diakses tanggal 5 Mei 2011
13. Gupta, Yanka., Selected Readings in Microbiology and Genetics. Sarup & Sons. 1998
14. Subroto, M. Ahkam., Nina Artanti. Produksi Metabolit Sekunder dari Tanaman Melalui Teknik Biak Sel dan Jaringan : Suatu Rintisan Ke Arah Tahap Komersialisasi Industri. Warta Biotek, 1996, Volume 10, No. 1, 5-10.
15. Esyanti, R.R., Aida Muspiah. Pola Produksi Ajmalisin dari Kultur Agregat Sel *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. dalam Bioreaktor *Airlift*. Hayati 2006, Volume 13, No.4, 161-165
16. Kumar, Padma, 2010. Plant Bioreactors Types - Their Advantages and Disadvantages <http://www.biotecharticles.com/OthersArticle/Plant-Bioreactors-Types-Their-Advantages-and-Disadvantages-259.html>. Diakses tanggal 5 Mei 2011
17. Misawa, Masanaru. *Plant Tissue Culture : An Alternative For Production of Useful Metabolites*. Food & Agriculture Org. 1994.