

Dr. Noor Aini Habibah, M.Si
Prof . Dr. Ari Yuniastuti, M.Kes

SENYAWA BIOAKTIF

TANAMAN DI INDONESIA

Editor:
Talitha Widiatningrum, S.Si., M.Sc., Ph.D



**SENYAWA BIOAKTIF
TANAMAN DI INDONESIA
POTENSI DAN PRODUKSI**

**SENYAWA BIOAKTIF TANAMAN DI INDONESIA
POTENSI DAN PRODUKSI**

**Dr. Noor Aini Habibah, M.Si
Prof . Dr. Ari Yuniastuti, M.Kes**



SENYAWA BIOAKTIF TANAMAN DI INDONESIA POTENSI DAN PRODUKSI

© Penerbit Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia (PRCI)

Penulis:

Dr. Noor Aini Habibah, M.Si
Prof . Dr. Ari Yuniastuti, M.Kes

Editor:

Talitha Widiatningrum, S.Si., M.Sc., Ph.D

Cetakan Pertama : Agustus 2021

Cover:

Rusli

Tata Letak : Tim Kreatif PRCI

Hak Cipta 2021, pada Penulis. Diterbitkan pertama kali oleh:

**Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia
ANGGOTA IKAPI JAWA BARAT**

Pondok Karisma Residence Jalan Raflesia VI D.151
Panglayungan, Cipedes Tasikmalaya – 085223186009

Website : www.rcipress.rcipublisher.org
E-mail : rumahcemerlangindonesia@gmail.com

Copyright © 2021 by Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia
All Right Reserved

- Cet. I - : Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia, 2021
; 14,8 x 21 cm
ISBN : 978-623-6478-32-5

Hak cipta dilindungi undang-undang
Dilarang memperbanyak buku ini dalam bentuk dan dengan
cara apapun tanpa izin tertulis dari penulis dan penerbit

Isi diluar tanggung jawab Penerbit
Undang-undang No.19 Tahun 2002 Tentang
Hak Cipta Pasal 72

Undang-undang No.19 Tahun 2002 Tentang Hak Cipta
Pasal 72

Barang siapa dengan sengaja melanggar dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam pasal ayat (1) atau pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling sedikit 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp.1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp.5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah).

Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran hak cipta terkait sebagai dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp.500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, atas Rahmat, Hidayah, Inayah dan Ridlo Allah yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, sehingga penulis dapat menyelesaikan buku referensi “Senyawa Bioaktif Tanaman di Indonesia : Potensi dan Produksi”. Buku Referensi ini merupakan salah satu wujud dalam bentuk tulisan yang berisi paparan teori, konsep dan hasil penelitian terkait potensi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia, dan produksinya secara *in vitro*.

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia telah dilakukan oleh nenek moyang kita sejak berabad-abad yang lalu. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasar pada pengalaman dan ketrampilan yang secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya. Potensi sebagai tanaman obat ini berkaitan dengan adanya kandungan senyawa bioaktif dalam tanaman. Telah banyak informasi tentang penggunaan tanaman obat, namun belum banyak informasi tentang potensi senyawa bioaktif dan produksinya melalui metode kultur jaringan. Oleh karena itu penulis menyusun buku ini sebagai bahan tambahan referensi tentang senyawa bioaktif yang berpotensi untuk menjaga kesehatan.

Dalam buku ini diuraikan potensi dan produksi senyawa bioaktif dari berbagai tanaman di Indonesia. Buku referensi ini terdiri atas lima bab, diawali dengan pendahuluan yang membahas latar belakang penulisan buku referensi ini. Bab lain yang ada di buku ini membahas potensi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia; produksi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia secara *in vitro*; dan peningkatan produksi senyawa bioaktif tanaman, dan penutup.

Noor Aini Habibah
Ari Yuniastuti

Harapan penulis buku ini dapat digunakan sebagai pegangan bagi mahasiswa, pengajar atau pihak lain yang berminat mempelajari senyawa bioaktif dan kultur jaringan. Pendapat dan saran yang bersifat konstruktif dari pembaca, para ahli, dan teman sejawat sangat penulis harapkan. Semoga tulisan ini bermanfaat bagi yang berminat.

Semarang, Agustus 2021

Penulis

KATA PENGANTAR

Tanaman merupakan organisme utama penangkap karbon dari udara. Unsur karbon yang ditangkap tersebut selain digunakan sebagai sumber energi, juga akan digunakan sebagai simpanan dalam tubuh tanaman. Simpanan karbon dapat berupa karbohidrat, asam amino, lemak bahkan berbagai metabolit lain yang secara langsung maupun tidak langsung telah memberikan berbagai fungsi bagi tanaman itu sendiri dan bagi kemaslahatan penggunaannya yaitu umat manusia. Peran tambahan yang diberikan oleh senyawa tersebut dapat berupa kinerjanya sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, bahkan anti kanker. Hal ini tentunya memberikan manfaat positif bagi manusia, sehingga kemudian membuat berbagai senyawa di atas dikenal sebagai senyawa bioaktif.

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki beragam kekayaan sumber daya alam, yang antara lain ditemukannya berbagai jenis tanaman. Keanekaragaman tanaman yang mungkin tidak dapat ditemukan di negara lain, membuat Indonesia memiliki potensi yang sangat luas sebagai penunjang material bioaktif. Penggalan potensi ini tentunya akan memberikan nilai lebih bagi Indonesia di mata dunia, sehingga pasar fitofarmaka tidak hanya berfokus pada bahan baku tetapi lebih kepada material serta variasi produk.

Buku ini memberikan gambaran akan variatifnya senyawa bioaktif tanaman yang ada di Indonesia. Dari buku ini, kita bisa belajar bersama mengenai potensi dan bagaimana produksinya secara *in vitro*. Potensi berbagai senyawa seperti glumanan dan acemanan dari lidah buaya, katekin dari tanaman teh, xanthorizol dan curcumin dari rimpang temulawak, likopen dalam buah tomat, serta inulin dan diosgenin dalam umbi gembili, dibahas dengan

cukup detail, disertai dengan gambar struktur, penjelasan struktur serta berbagai penelitian yang terkait. Produksi secara *in vitro* sendiri dibedakan dalam bagaimana metodenya dan bagaimana meningkatkan kualitas dan kuantitasnya. Begitu detail dan dalamnya pembahasan menjadikan buku ini tepat untuk dijadikan buku referensi dalam fitokimia. Lebih lanjut, buku ini akan sangat membantu digunakan oleh mahasiswa yang mengikuti perkuliahan biokimia, fisiologi tumbuhan, gizi dan kesehatan, bahkan sampai perkuliahan kultur jaringan. Kefokusannya pada satu bidang ilmu dengan manfaat yang sangat luas, sekali lagi membuat buku ini menjadi sangat bermanfaat sebagai buku referensi.

Pada kesempatan ini, apresiasi yang sebesar – besarnya diberikan bagi penulis buku, yaitu ibu Noor Aini Habibah dan ibu Ari Yuniastuti, karena beliau berdua telah melaksanakan riset yang mendalam dalam bidang fitokimia dan bersedia meluangkan waktunya untuk menulis buku ini sebagai bentuk pemaparan dari hasil penelitian beliau berdua, sehingga dapat dimanfaatkan tidak hanya oleh pembaca dalam satu bidang ilmu, seperti mahasiswa dan kolega, namun juga dapat menjadi *sharing* pengalaman yang berharga bagi para pelaku kultur jaringan dan herbal. Akhirul kata, kami menyampaikan terimakasih bagi beliau penulis berdua dan semoga buku ini dapat selalu dikembangkan sesuai dengan perkembangan riset dan ilmu pengetahuan.

Semarang, Agustus 2021

Talitha Widiatningrum

DAFTAR ISI

PRAKATA.....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Penulisan Buku	1
B. Metode Pemecahan Masalah	4
BAB II POTENSI SENYAWA BIOAKTIF BEBERAPA	
TANAMAN DI INDONESIA.....	7
A. Glumanan dan Acemanan dari Tanaman Lidah	
Buaya (<i>Aloe vera</i>)	7
B. Katekin dalam Tanaman Teh (<i>Camelia sinensis</i>)	
.....	19
C. Xanthorrhizol dan Curcumin dalam Temulawak	27
D. Likopen dalam buah Tomat.....	31
E. Inulin dan Diosgenin dalam Umbi Gembili	36
BAB III PRODUKSI SENYAWA BIOAKTIF MELALUI	
KULTUR IN VITRO DI INDONESIA	47
A. Andrografolid dari kultur kalus dan kultur	
suspensi sel sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	
.....	47
B. Kaempferol dari Kultur suspensi sel Rejasa	
(<i>Elaocarpus grandiflorus</i>)	49
C. Fenol dari kultur suspensi sel Gembili (<i>Dioscorea</i>	
<i>esculenta</i>)	52
D. Quercetin, Naringenin dan Rutin dari kultur	
kalus dan kultur suspensi Kepel (<i>Stelechocarpus</i>	
<i>burahol</i>).....	54
E. Gingerol, shogaol, dan zingeron dari kultur	
kalus Jahe (<i>Zingiber officinale</i>).....	57
F. Katarantin dari kultur kalus Tapak Dara	
(<i>Catharanthus roseus</i>)	59

G. Saponin dari Kultur Kalus Ginseng Jawa (<i>Talinum paniculatum</i>)	60
H. Flavonoid dari kultur kalus berbagai tanaman di Indonesia	62
BAB IV PENINGKATAN PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER DENGAN KULTUR IN VITRO DI INDONESIA	67
A. Elisitasi pada kultur sel sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	67
B. Immobilisasi sel pada kultur suspensi sel Kepel	71
C. Penambahan Prekursor pada kultur suspensi sel kepel.....	77
D. Induksi <i>hairy root</i> dengan menggunakan <i>A.</i> <i>rhizogenes</i> pada kultur <i>C. asiatica</i>	82
E. Perlakuan stress kekeringan menggunakan PEG pada kultur kalus <i>Catharanthus roseus</i>	83
F. <i>Temporary immersion bioreactor</i> pada kultur tunas <i>Gynura procumbens</i>	83
BAB V PENUTUP	85
DAFTAR PUSTAKA.....	87
ISTILAH-ISTILAH PENTING.....	101

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komponen utama katekin daun teh segar	20
Tabel 2.2	Komposisi pucuk teh segar (% berat kering)	27
Tabel 2.3	Kandungan Likopen dalam Beberapa Buah dan Sayur	32
Tabel 4.1	Berat basah, berat kering dan kandungan flavonoid sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat pada umur 36 hari	75
Tabel 4.2	Pertumbuhan dan kandungan flavonoid kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin pada kultur 36 hari	81

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Susunan Glucomannan Dengan Unit (GGMM), Glukosa yang ke dua Mengikat Kelompok Asetat (Zamora, 2005).....	8
Gambar 2.2 Struktur Acemannan	11
Gambar 2.3 Menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads pada kelompok pemberian jus Aloe vera (pembesaran 400x)	16
Gambar 2.4 Menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads pada pemberian jus aloe vera 0,5 ml/hari (pembesaran 400x).....	16
Gambar 2.5 Menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads pada kelompok pemberian jus aloe vera 1 ml/hari (pembesaran 400x).....	17
Gambar 2.6 Menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads pada pemberian jus aloe vera 1,5 ml/hari (pembesaran 400x).....	17
Gambar 2.7 Sel daun teh.....	26
Gambar 2.8 Struktur senyawa bioaktif Xanthorizol.....	29
Gambar 2.9 Struktur senyawa bioaktif Curcumin	30
Gambar 2.10 Struktur Kimia Inulin	37
Gambar 2.11 Struktur Kimia Diosgenin dan Disocin dari umbi Gembili (Heena&Lele, 2012)	41
Gambar 3.1 Struktur Andrografolid (Pubchem, 2021).....	47
Gambar 3.2 Struktur Kaempferol (Pubchem, 2021)	50
Gambar 3.3 sturktur fenol (Pubchem, 2021)	52
Gambar 3.4 a. Naringenin, b. Quercetin, c. Rutin (Pubchem, 2021).....	55
Gambar 3.5 a. Gingerol, b. Shogaol, c. Zingeron (Pubchem, 2021).....	58
Gambar 3.6 Struktur kimia Katarantin (Pubchem, 2021) 59	

Gambar 3.7 Struktur kimia saponin (Pubchem, 2021)	61
Gambar 3.8 Struktur berbagai kelas utama flavonoid (Ferreyra et al., 2012)	62
Gambar 4.1 Berat basah sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %.....	73
Gambar 4.2 Berat kering sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %.....	74
Gambar 4.3 Kandungan flavonoid sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %.....	74
Gambar 4.4 Immobilisasi sel kepel pada alginat.....	77
Gambar 4.5 Berat basah kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5mg/L Picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin. No = tanpa penambahan prekursor; N2 = Penambahan prekursor naringenin 2 ppm; N4 = Penambahan prekursor naringenin 4 ppm; N6 = Penambahan prekursor naringenin 6 ppm	79
Gambar 4.6 Berat kering kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5mg/L Picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin. No = tanpa penambahan prekursor; N2 = Penambahan prekursor naringenin 2 ppm; N4 = Penambahan prekursor naringenin 4 ppm; N6 = Penambahan prekursor naringenin 6 ppm	79

- Gambar 4.7 Kandungan flavonoid kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin. No = tanpa penambahan prekursor; N2 = Penambahan prekursor naringenin 2 ppm; N4 = Penambahan prekursor naringenin 4 ppm; N6 = Penambahan prekursor naringenin 6 ppm..... 80
- Gambar 4.8 Pengaruh frekuensi perendaman dan ZPT pada induksi tunas dalam temporary immersion bioreactor; A1 = frekuensi perendaman 5 menit, interval 3 jam, A2 = frekuensi perendaman 15 menit, interval 12 jam, B1 = IAA 2 mg/L dan BA 4 mg/L, B2 = IAA 2 mg/L dan BA 6 mg/L, B3 = IAA 2 mg/L dan BA 8 mg/L; bar = 1 cm ((Pramita et al., 2018)..... 84

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penulisan Buku

Sejak dahulu kala, produk senyawa bahan alam tidak hanya digunakan sebagai pewarna makanan, tetapi juga telah memberikan kontribusi dalam pengobatan. Akhir abad ke-19 terjadi penurunan tingkat minat terhadap produk senyawa bahan alam, terutama karena meningkatnya produk sintetis senyawa baru. Namun, tak lama kemudian muncul kekhawatiran terhadap lingkungan akibat penggunaan bahan kimia sintetis yang berlebihan. Sehingga terjadi peningkatan kebutuhan untuk mencari obat baru dan lebih baik, dengan demikian memberikan dorongan untuk analisis senyawa bioaktif dan sumbernya.

Saat ini, senyawa bioaktif sangat penting dalam pengembangan produk baik industri farmasi maupun industri kimia. Senyawa bioaktif telah diidentifikasi dari berbagai sumber dan bermanfaat untuk terapi, memiliki nilai gizi yang tinggi dan efek perlindungan pada kesehatan manusia dan hewan serta sebagai obat-obatan dan bahan makanan fungsional. Saat ini, terjadi peningkatan permintaan dari pihak konsumen untuk konsumsi buah dan sayuran segar atau olahan, terutama sebagai jus, kalengan, beku, atau produk olahan (segar-potong, mudah dimakan, atau mudah disiapkan), antara lain produk yang aman secara mikrobiologis.

Banyak studi telah menunjukkan bahwa fitokimia dalam buah-buahan dan sayuran memiliki senyawa bioaktif dan bermanfaat bagi kesehatan manusia. Konsumen juga mengkonsumsi makanan tanpa bahan tambahan sintetis karena molekul sintetis diduga menyebabkan atau meningkatkan efek kesehatan yang negatif. Seiring dengan hal tersebut, maka saat ini banyak

masyarakat berupaya untuk mengkonsumsi makanan sehat, aman, bebas sintesis aditif. Konsumen lebih memilih bahan makanan dari bahan alami dan tidak mengandung bahan aditif dan mengandung nutrisi yang dipersyaratkan.

Telah terbukti bahwa konsumsi makanan yang kaya fitokimia, seperti: serat makanan yang diperkaya antioksidan di dalamnya membantu mencegah perkembangan penyakit degeneratif. Selain itu, pengolahan buah-buahan dan sayuran menghasilkan produk sampingan dalam jumlah tinggi seperti: kulit, biji, batu, sisa pulp, potongan utuh yang dibuang, dll., namun kaya akan senyawa fitokimia (senyawa fenolik, karotenoid, serat pangan, vitamin C, mineral, dll.) yang dapat digunakan sebagai sumber bahan pangan yang murah dan fungsional (bermanfaat untuk kesehatan).

Dalam beberapa tahun terakhir, terjadi peningkatan konsumsi sayuran dan buah-buahan, karena konsumen memiliki pengetahuan yang lebih besar tentang sifat menguntungkan yang diperoleh bila mengkonsumsi sayur dan buah. Studi epidemiologi telah menunjukkan hubungan langsung antara diet kaya buah-buahan dan sayuran dengan insiden penyakit degeneratif yang lebih rendah seperti jenis kanker tertentu, penyakit kardiovaskular, degenerasi makula, penuaan, dan lain-lain (Liu 2013). Hal tersebut telah dikaitkan dengan adanya senyawa tertentu dalam makanan karena adanya aktivitas biologis yang memberikan manfaat bagi kesehatan, yaitu sebagai senyawa bioaktif atau fitokimia (Liu 2013). Aktivitas biologis senyawa bioaktif (serat makanan, karotenoid, fenol, vitamin A, C, dan E, glukosinolat, senyawa organosulfur, lakton seskuiterpenik, dll.) telah dipelajari dengan cara *in vitro*, *in vivo*, dan studi intervensi manusia.

Mekanisme manfaat yang dihasilkan dari konsumsi buah dan sayuran masih belum diketahui dengan pasti. Kemungkinan terkait dengan kandungan fitokimia yang dapat memberikan manfaat antara lain : sebagai modulasi konsentrasi hormon steroid dan enzim detoksifikasi; pengurangan agregasi plak dan tekanan darah; perubahan kolesterol dan metabolisme hormon, antioksidan, antivirus, dan aktivitas antibakteri; stimulasi dari respon imun; pengurangan proses inflamasi; antimutagenik dan sifat antikarsinogenik; dan pencegahan dan mencegah penyakit kardiovaskular (Liu 2013; Yu dan Ahmedna 2013).

Berbagai senyawa biokatif dari tanaman yang berpotensi bagi kesehatan telah banyak diteliti, baik oleh peneliti dari luar negeri maupun peneliti Indonesia. Hasil-hasil penelitian perlu dilaporkan dalam bentuk buku referensi sebagai sarana publiaksi hasil penelitian, agar bila dibaca oleh masyarakat umum, maka masyarakat dapat mengetahui adanya hasil penelitian tentang senyawa biokatif tanaman yang ada di Indonesia, .

Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu kajian potensi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia beserta cara produksi senyawa bioaktif tersebut. Senyawa bioaktif secara alami dapat diproduksi oleh tanaman, namun memerlukan jangka waktu lama. Sehingga dilakukan penelitian untuk memproduksi senyawa bioaktif secara *in vitro* menggunakan metode kultur jaringan. Selain itu juga telah dilakukan berbagai penelitian untuk mengetahui aktivitas senyawa biokatif beberapa tanaman di Indonesia, antara lain sebagai antidiabetik, antihiperkolesterolemia, antioksidan, antiinflamasi, antianker, imunomodulator dan aktivitas biologis lainnya. Beberapa senyawa bioaktif tanaman di Indonesia yang telah diteliti antara lain acemannan dan glucomanan (Yuniastuti *et al*, 2014; Yuniastuti *et al*, 2017), lycopene (Iswari *et al*, 2017), katekin (Yuniastuti *et al*, 2019), Curcumin (Yuniastuti *et al*, 2015),

dan inulin dan dioscorea (Yuniastuti *et al.*, 2020).

Berdasarkan hal tersebut, permasalahan yang perlu dipecahkan dalam rangka untuk meningkatkan informasi dan mengembangkan senyawa bioaktif di Indonesia sebagai produk fitofarmaka adalah .

1. Bagaimana potensi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia ?
2. Bagaimana produksi senyawa bioaktif tanaman secara *in vitro* di Indonesia?
3. Bagaimana peningkatan produksi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia untuk?

Adapun tujuan penulisan buku ini dimaksudkan untuk mengkaji beberapa hal terkait, antara lain :

1. Menggambarkan potensi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia
2. Menginformasikan proses produksi senyawa bioaktif tanaman secara *in vitro* di Indonesia
3. Menginformasikan proses peningkatan produksi senyawa Bioaktif tanaman di Indonesia

B. Metode Pemecahan Masalah

Berdasarkan identifikasi masalah, maka metode pemecahan masalah yang akan dilakukan adalah melalui penelitian pada hewan coba, penelitian skala laboratorium, dan penelitian meta analisis yaitu kajian terhadap beberapa hasil penelitian yang terkait dengan potensi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia terhadap kesehatan serta proses produksi senyawa bioaktif dengan metode kultur jaringan secara skala laboratorium. Beberapa jurnal hasil penelitian tentang senyawa bioaktif dikumpulkan dari penerbit publikasi seperti PubMed, Medline dan Google Scholar. Pencarian termasuk penyakit-penyakit seperti sindrom iritasi usus, diare, penyakit kanker, diabtese melitus dan penyakit yang berhubungan dengan kolesterol.

Oleh karena itu, tulisan ini mengkaji secara teoritik dan hasil penelitian terkait potensi dan produksi senyawa bioaktif di Indonesia. Hal-hal yang akan dikaji meliputi : 1) potensi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia; 2). Produksi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia secara ini vitro untuk skala laboratorium; 3). Peningkatan produksi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia secara ini vitro melalui metode kultur jaringan untuk produksi skala laboratorium.

Buku ini membahas perkembangan terkini di bidang farmakognosi, terutama upaya interdisipliner untuk mengidentifikasi sumber baru senyawa bioaktif dan aplikasi biologis. Kajian hasil penelitian skala laboratorium berupa eksplorasi senyawa bioaktif tanaman dan potensinya bagi kesehatan serta cara produksi senyawa biokatif untuk skala laboratorium melalui metode kultur jaringan. Buku ini memberikan informasi tentang potensi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia (Bab 2). Proses produksi senyawa bioaktif tanaman di Indonesia secara ini vitro untuk skala laboretorium (Bab 3) dan Proses peningkatan Produksi senyawa Bioaktif tanaman di Indonesia secara ini vitro melalui metode kultur jaringan. Buku ini telah dirancang untuk menjadi teks informatif untuk sarjana dan mahasiswa pascasarjana kimia biomedis yang tertarik untuk mengeksplorasi potensi produk alami bioaktif dan juga memberikan informasi yang bermanfaat untuk ilmuwan yang bekerja di berbagai bidang penelitian di mana produk alami memiliki peran utama.

Noor Aini Habibah
Ari Yuniastuti



BAB II

POTENSI SENYAWA BIOAKTIF BEBERAPA TANAMAN DI INDONESIA

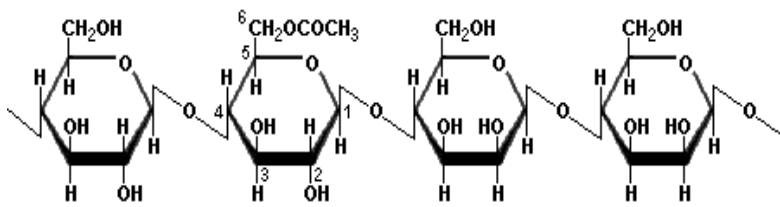
A. Glumanan dan Acemanan dari Tanaman Lidah

Buaya (*Aloe vera*)

Lidah buaya (*Aloe vera*) merupakan tanaman yang telah lama dikenal di Indonesia karena kegunaannya sebagai tanaman obat untuk aneka penyakit. Komponen kimia aktif *Aloe vera* berasal dari gel dan lapisan getah daun. Dr. Clinton Howard dan ilmuwan Carrington Laboratories berhasil menemukan senyawa aktif *Aloe vera* yang berasal dari gel yaitu berupa polisakarida *Mucopolysaccharides* (MPS) kemudian diberi nama *acemannan* dan *glucomannan* oleh the American Medical Association (AMA). *Acemannan* dan *glucomannan* berperan seperti serat di dalam tubuh. *glucomannan* adalah komponen dalam tanaman yang tidak tercerna secara enzimatik menjadi bagian-bagian yang dapat diserap oleh saluran pencernaan. Sedangkan komponen yang berasal dari getah daun (*latex leaf lining*) yaitu *anthraquinone glycosida* terdiri dari : aloin, aloemodin, barbaloin (15-30%). Senyawa aktif *Aloe vera* (*acemannan*) karena *Aloe vera* mengandung berbagai senyawa yang bekerja seperti sebuah konduktor yang menghasilkan sinergisme dengan berbagai komponen aktif atau dengan berbagai komponen biologis lainnya, sehingga digunakan jus *aloe vera*.

Glucomannan merupakan polisakarida yang tersusun atas monomer glukosa (G) dan mannose (M) dengan perbandingan 5 : 8 dengan ikatan β -glikosidik (1 - 4). Rantai pendek terdiri dari 11 - 16 monosakarida dengan interval antara 50 - 60 unit yang tersebar dengan ikatan β (1 - 6). Pada setiap 9 - 19 unit rantai terdapat asetat yang berikatan dengan atom C nomor 6. Hidrolisis bentuk

intermolekul kelompok asetat terjadi saat gelnya berpengaruh. Contoh unit polimer basa adalah GGMMGMMMMMGGM. Struktur *glukomannan* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 2.1 Susunan *Glucomannan* Dengan Unit (GGMM), Glukosa yang ke dua Mengikat Kelompok Asetat (Zamora, 2005).

Glucomannan merupakan serat larut (*Soluble Dietary Fiber, SDF*), karena *glucomannan* dapat menyerap 200 kali berat air. *Glucomannan* adalah serat tinggi yang penting untuk membersihkan sistem pencernaan. *Glucomannan* dapat mengontrol kegemukan, kadar gula darah, membantu mencegah kanker, sembelit, dan mereduksi kolesterol (Yuniastuti, 2014). Seperti serat larut lainnya, *glucomannan* dapat menurunkan kadar kolesterol darah dengan dua cara. Pertama, *glucomannan* bergabung dengan kolesterol di dalam garam empedu (cairan berwarna kuning yang diproduksi oleh hati untuk membantu penyerapan lemak di dalam jejunum). Sebagian besar kolesterol pembentuk garam empedu akan diekskresikan bersama serat sebagai bahan buangan dan tidak diserap lagi. Kolesterol merupakan bahan dasar pembentuk empedu. Untuk menggantikan garam empedu yang hilang, kolesterol dikeluarkan dari peredaran darah. Peristiwa ini dapat menurunkan kadar kolesterol darah. Kedua, di dalam usus *glucomannan* mengikat asam lemak sehingga menghambat penyerapan asam lemak yang akhirnya menghalangi sintesis lemak dan kolesterol (Yuniastuti, 2014).

Glucomannan memiliki aktifitas dalam menghambat kerja *HMG KoA reduktase* dalam biosintesis kolesterol di sel dan menghambat kerja *Acyl CoA Cholesterol Acyl Transferase (ACAT)* sehingga dapat menurunkan hiperkolesterolemi (Yuniastuti *et al.*, 2014). *Glucomannan* membantu menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes tidak tergantung insulin dan menurunkan kadar lemak pada penderita hiperlipidemia. Hasil penelitian Anonim (2005) melaporkan bahwa penggunaan suplemen *glucomanan* dengan beberapa gram/hari efektif menurunkan kolesterol total darah, LDL-kolesterol, trigliserida dan dalam beberapa kasus dapat menaikkan HDL-kolesterol.

Glucomannan dipakai seperti penahan lapar, karena ia menimbulkan perasaan kenyang. Apabila serat ini dimakan, maka akan membentuk gel di dalam lambung dan membantu melambatkan perjalanan zat makanan meninggalkan lambung untuk memasuki usus kecil. Satu gram *glucomannan* dapat menyerap 200 ml air, sehingga dapat digunakan untuk menyerap partikel, termasuk karsinogen. Perasaan kenyang timbul karena komposisi karbohidrat kompleksnya yang menghentikan nafsu makan. Fermentasi serat dalam usus besar meningkatkan pertumbuhan bakteri penghasil asam laktat yang membantu mencegah akumulasi zat racun dan bakteri patogen (penyebab penyakit) (Arrahman, 2005).

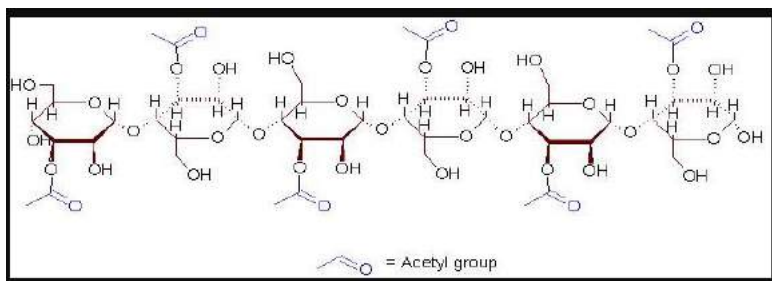
Beberapa penelitian membuktikan bahwa rendahnya kadar kolesterol dalam darah ada hubungannya dengan kandungan serat makanan. Secara fisiologis, serat makanan yang larut (SDF) lebih efektif dalam mereduksi plasma kolesterol yaitu *low density lipoprotein* (LDL), serta meningkatkan kadar *high density lipoprotein* (HDL) (Joseph, 2002). Beberapa studi tentang penggunaan suplemen *glucomannan* dengan beberapa gram/hari akan efektif menurunkan kolesterol total darah, LDL-kolesterol dan

trigliserida, dan dalam beberapa kasus dapat menaikkan HDL-kolesterol (Yuniastuti, 2014).

Lidah buaya mengandung glukomanan yang dalam usus halus glukomanan bergabung dengan kolesterol yang terdapat di dalam garam empedu, garam empedu tersebut terbawa keluar bersama feces. Akibatnya garam empedu yang diabsorpsi kembali menjadi lebih kecil. Untuk memenuhi kebutuhan garam empedu, tubuh akan mensintesis garam empedu. Bahan dasar garam empedu adalah kolesterol, sehingga tubuh mengambil kolesterol dari peredaran darah, akibatnya kadar kolesterol darah menurun. Selain itu glukomanan juga mempunyai pengaruh secara tidak langsung terhadap kadar VLDL dalam hati. Hal ini dikarenakan glukomanan mempunyai sifat mudah berikatan dengan asam lemak. Di dalam usus halus glukomanan berikatan dengan asam lemak sehingga menghambat penyerapan asam lemak yang akhirnya menghalangi sintesis kolesterol dan lemak di dalam hati. Rendahnya sintesis lemak dalam hati menyebabkan rendah pula mengangkutan lemak dalam bentuk VLDL dari hati ke jaringan adiposa, sehingga menyebabkan rendahnya kadar LDL-kolesterol dalam darah. Seperti diketahui bahwa VLDL selama dalam perjalanan menuju ke sel target (otot dan adiposa) akan mengalami hidrolisis kandungan trigliseridanya oleh lipase lipoprotein . Akibatnya VLDL akan bergabung dengan kolesterol dari VLDL yang lain sehingga menjadi molekul yang lebih berat yang disebut LDL-kolesterol.

Salah satu upaya untuk menjaga kadar kolesterol darah tetap normal adalah dengan mengatur pola makan, yaitu dengan mengurangi makanan yang banyak mengandung lemak jenuh dan kolesterol. Dianjurkan apabila mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung lemak jenuh dan kolesterol sebaiknya disertai dengan mengkonsumsi ekstrak lidah buaya.

Komponen polisakarida utama yang berperan sebagai imunomodulator dikenal sebagai *acemannan*. Terdapat perbedaan dalam berepa literatur mengenai struktur *acemannan*. *Acemannan*, β -(1, 4)- *polydispersed*, merupakan mannan (M) yang terikat dengan asetat ditemukan dalam gel daun bagian dalam tanaman lidah buaya, dan diproduksi oleh sel khusus yang disebut leukoplas. Lobo *et al* (2010) menyebutnya sebagai *acemannan aloeverose*. Sebagai polisakarida, *acemannan* terdiri dari monomer mannose (M), glukosa dan galaktosa. Perkiraan komposisi monosakarida *acemannan* adalah 31 β -(1, 4)- *mannosa*, 1 β -(1, 4)- glukosa, dan 1 α -(1, 6)- galaktosa (Ni *et al.*, 2004).



Gambar 2.2 Struktur Acemannan

Acemannan merupakan salah satu polisakarida yang dapat meningkatkan jumlah sel darah putih, makrofag dan sel T. Salah satu mekanisme dimana komponen lidah buaya dapat meningkatkan penyembuhan luka adalah dengan aktivasi makrofag. Zhang & Tizard (1996) menunjukkan bahwa *acemannan*, dalam kombinasi dengan interferon gamma, memiliki efek pada pelepasan oksida nitrat, interleukin-6 dan tumor necrosis factor- α oleh makrofag. Pelepasan sitokin ini merangsang peningkatan hingga 300% replikasi fibroblas dalam kultur jaringan dan meningkatkan fagositosis makrofag. Lee *et al* (2001) menunjukkan bahwa *acemannan* memiliki aktivitas

imunomodulator dan menginduksi pematangan sel dendrit. *Acemannan* bertanggungjawab meningkatkan produksi sel limfosit-T dan menopang sistem kekebalan tubuh. Hasil penelitian *in vitro* memperlihatkan bahwa polisakarida yang dikandung oleh *Aloe vera* ((3-1,3; (3-glucan dan (1-1,4 yang dikenal sebagai *acemannan*), merupakan senyawa yang bersifat imunomodulator (Yuniastuti, 2010).

Efek imunostimulan *Aloe vera* yang telah dibuktikan secara *in vitro* adalah memacu dan meningkatkan aktivitas makrofag dan monosit, meningkatkan jumlah sel limfosit T (proliferasi sel limfosit) dan memacu aktivitas *candidacidal* makrofag. *Acemannan* mempunyai efek langsung pada sel-sel system imun, mengaktivasi dan menstimulasi makrofag, monosit, antibody dan sel-sel T. *Acemannan* dapat menstimulasi produksi sitokin seperti IFN- γ , TNF dan interleukin terutama oleh makrofag (Yuniastuti, 2010). Penelitian lain pada sel makrofag, *acemannan* dapat menstimulasi produksi sitokin makrofag (IL-6 dan TNF- α), produksi NO, ekspresi molekul permukaan dan perubahan morfologi sel (Yuniastuti, 2010). Pada manusia, *acemannan* mampu meningkatkan respon limfosit terhadap antigen dengan meningkatkan pelepasan IL-1 oleh monosit (Saputra, 2003). *Aloe* juga meningkatkan sejumlah antibody oleh Sel B dengan bantuan sel T dan meningkatkan killing dan sel T, disamping itu juga melindungi sumsum tulang dari kerusakan senyawa toksik (Pittman, 2003). *Acemannan* dapat menstimulasi produksi sitokin seperti IFN γ , TNF dan interleukin terutama oleh makrofag (Saputra, 2000).

Data *in vitro* menunjukkan bahwa *Aloe vera* yang mengandung *acemannan* mampu meningkatkan fungsi monosit, aktivitas makrofag, sitotoksitas, menstimulasi sel T, memacu/meningkatkan aktivitas *candidacidal* makrofag (Zhang, 1999). Selain itu percobaan *in vitro* juga menunjukkan bahwa *acemannan* meningkatkan dan

memacu makrofag melepas interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), Tumor nekrosis Factor alpha (TNF- α) dan interferon gamma (IFN- γ) (Zhang & Tizard, 1996).

Aloe vera juga telah dikenal sebagai agen anti inflamasi, yaitu dengan memblok integrin tertentu. Integrin merupakan protein yang memperantarai cell *adherence*. Pada jaringan yang mengalami inflamasi, sel-sel pertahanan seperti neutrofil harus terikat ke sel endotel pada dinding pembuluh darah sebelum masuk ke jaringan. Karbohidrat bagian dari aloe vera mereduksi inflamasi dengan memblok emigrasi neutrofil yang diperantarai *integrin beta 2* (Vasques, 1996) Pemberian *Aloe vera* gel pada diet menyebabkan penurunan total lemak, menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, meningkatkan kadar HDL dan menormalkan kadar gula darah (Ishii *et al*, 2004).

Respon imun seluler akan teraktivasi untuk mengeliminasi infeksi oleh bakteri intra seluler seperti *Salmonella typhimurium* diantaranya dengan adanya respon proliferasi limfosit. Respon proliferasi limfosit secara makroskopis dilihat dengan adanya penambahan ukuran (besar dan berat) limpa (*splenomegaly*). Pembesaran limpa merupakan penemuan klinis penting pada sepsis dan mencerminkan penambahan fungsi fagositik (Bellanti, 1993).

Efek anti-inflamasi dari *Aloe vera* ini seperti ditunjukkan oleh beberapa hasil penelitian, yaitu hasil penelitian oleh Davis dan maro (1989), *A. Vera* mempunyai aktivitas anti-inflamasi pada mencit diabetik dengan memblok respon leukosit *Polimorfonuklear* (PMN) ke tempat inflamasi (Imanishi, 1993). Penelitian lain oleh Vasques dkk (1996), efek anti-inflamasi *A. Vera* yaitu dengan aksi inhibisi pada jalur asam *arachidonic* via *cyclooxygenase*. Sedangkan penelitian oleh Zang & Tizard (1996) menyatakan bahwa ekstrak *Aloe* memprasarani

mekanisme anti-inflamasi dengan memblok emigrasi neutrofil yang diprasaranai oleh integrin $\beta 2$ tertentu (*LFA-01* dan *Mac-1*).

Aloe vera dapat beraksi sebagai adjuvant untuk meningkatkan respon imun terhadap antigen. Ada 2 senyawa modulator pada gel *Aloe vera* yang dibedakan secara kimiawi. Fraksi yang pertama dapat menimbulkan pembentukan antibody dan fraksi yang lain dapat menghambat pembentukan antibody sehingga *A. vera* dikatakan sebagai **imunomodulator**. *Aloe vera* juga dapat menghambat dan menstimulasi fagositosis. *Aloe vera* beraksi sebagai stimulator imun pada penyembuhan luka dan respon imun pada inflamasi dan kedua peristiwa tersebut dapat terjadi bersamaan. *Aloe vera* disebut sebagai modulator yang membawa system biologis ke keseimbangan (Anonimus, 2003).

Imunitas terhadap *Salmonella* melibatkan komponen *cell mediated imunity* (CMI) seperti limfosit. Limfosit secara genetik diprogram agar mampu mengenal antigen tertentu saja. Organ limfoid sekunder seperti limpa berfungsi untuk menangkap dan mengunpulkan antigen dengan efektif, untuk proliferasi dan diferensiasi limfosit yang sudah disensitisasi (*antigen commited lymphocyte*). Limfosit mengalami resirkulasi dari organ limfoid satu ke lainnya, ke saluran limfe dan darah sehingga swaktu terjadi infeksi akan banyak limfosit terpajan dengan antigen kuman penginfeksi. Kemampuan mengenal antigen tersebut disebabkan oleh adanya reseptor pada permukaan sel limfosit tersebut. Limfosit yang telah distimulasi oleh antigen spesifik akan segera membelah dan akan mengekspresikan reseptor baru yang memungkinkan mereka untuk merespon terhadap sitokin dari sel lain yang merupakan sinyal proliferasi. Limfosit juga akan mulai mensekresi sitokin sendiri dan di bawah pengaruh sitokin tersebut mereka akan mengalami sejumlah siklus

pembelahan sebelum berdiferensiasi menjadi sel efektor yang matang. Proliferasi akan menurunkan sel-sel secara genetis identik (*clonal selection*) (Roitt *et al*, 2001 dan Baratawidjaja, 2002).

Pengaruh pemberian jus *Aloe vera* pada suatu penelitian dapat meningkatkan jumlah limfosit pada limpa. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya rangsangan dari komponen *Aloe vera* yang bersifat mitogen terhadap limfosit. Mitogen dan lectin merupakan bahan alamiah yang mempunyai kemampuan mengikat dan merangsang banyak klon limfoid untuk proliferasi dan diferensiasi (Baratawidjaja, 2002)

Berdasarkan penelitian Imanishi (1993) dan Koike dkk (1995), menyatakan bahwa *Aloctin A* (lectin) merupakan substansi aktif pada tanaman *aloe* yang mempunyai aktifitas mitogenik bagi limfosit tikus. Stimulasi limfosit dengan mitogen mengakibatkan berbagai reaksi biokimia di dalam sel, diantaranya fosforilasi nukleoprotein, pembentukan DNA dan RNA dan sebagainya. Secara morfologik perubahan-perubahan tersebut tampak sebagai sel yang menyerupai *blast* (Kresno, 2001) dan pemberian jus *Aloe vera* mampu meningkatkan proliferasi limfosit.

Aloe vera dapat meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag (Yuniastuti *et al*, 2010). Hasil penelitian Yuniastuti *et al* (2010) menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads.



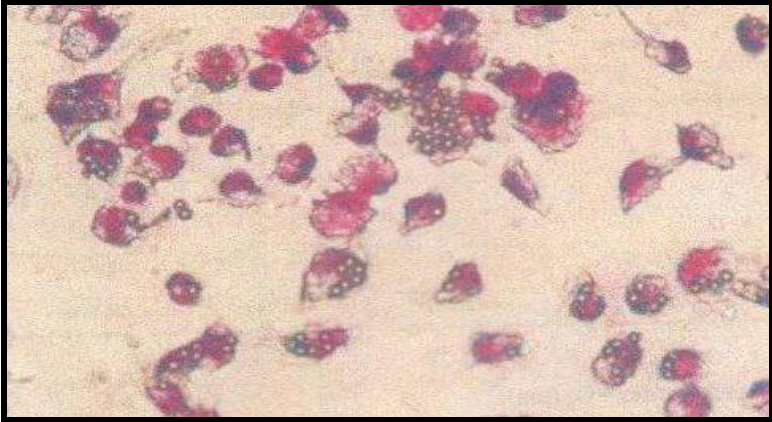
sel makrofag

Partikel latex beads

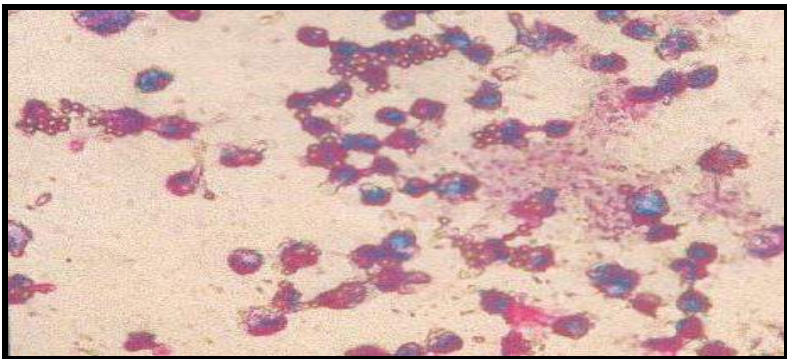
Gambar 2.3 Menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads pada kelompok pemberian jus Aloe vera (pembesaran 400x)



Gambar 2.4 Menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads pada pemberian jus aloe vera 0,5 ml/hari (pembesaran 400x)



Gambar 2.5 Menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads pada kelompok pemberian jus aloe vera 1 ml/hari (pembesaran 400x)



Gambar 2.6 Menunjukkan gambaran sel makrofag dan partikel latex beads pada pemberian jus aloe vera 1,5 ml/hari (pembesaran 400x)

Penelitian yang telah dilakukan oleh Stuart *et al* (1999) yang menyelidiki efek pemaparan acemannan (kandungan aktif Aloe vera) terhadap makrofag, yang mana acemannan mampu meningkatkan *respiratory burst* (RB), fagositosis dan aktivitas candidicidal. Peningkatan fungsi makrofag berasosiasi dengan binding mannosylated serum albumin (mBSA) terhadap reseptor mannose-makrofag, selain itu

Zhang dan Tizard (1999) meneliti efek acemannan terhadap makrofag cell line RAW 264,7 memperlihatkan hasil bahwa acemannan memacu fungsi makrofag, memacu makrofag melepaskan interleukin 6 (IL-6), TNF- α dan IFN- γ , produksi NO, ekspresi molekul permukaan sedangkan sitokin-sitokin yang dipacu tersebut tergantung pada dosis yang digunakan, disamping itu perubahan morfologis sel dan respon ekspresi antigen permukaan meningkat akibat stimulasi campuran acemannan dan IFN- γ . Diperkirakan bila kemampuan fagositosis meningkat maka produksi sitoki-sitokin yang mengaktivasi makrofag juga meningkat. Pada penelitian lain, Womble dan helderman (1998) mengemukakan acemannan merupakan imunostimulator yang penting dalam meningkatkan respon limfosit terhadap alloantigen, meliputi mekanisme memamcu monosit melepas IL-1, kemampuan ini diuji terhadap infeksi virus pada binatang dan manusia. Selain itu pemberian acemannan pada pasien yang terinfeksi HIV-1 mampu meningkatkan sirkulasi monosit/makrofag, meningkatkan aktivitas fagositosis, sehingga mampu memperbaiki MWR secara signifikan.

Aloe vera merupakan obat tradisional untuk diabetes melitus di berbagai belahan dunia. Beberapa bukti pada manusia dan hewan menunjukkan bahwa Aloe vera mampu meringankan hiperglikemia kronis dan gangguan profil lipid yang merupakan ciri pada penyakit diabetes melitus. Huseini et al (2012) mengevaluasi khasiat dan keamanan gel daun lidah buaya dalam pengobatan pasien diabetes tipe 2 yang resisten terhadap obat antihiperglikemik sintetis oral yang membutuhkan insulin. Satu-satunya zat bioaktif yang diidentifikasi dan diukur dalam gel lidah buaya yang digunakan dalam percobaan ini adalah *acemannan*. Acemannan menurunkan kadar darah puasa glukosa dan hemoglobin glikosilasi (HbA1c) secara signifikan tanpa efek signifikan pada tes fungsi hati atau

ginjal. Mengingat hasil uji coba, uji klinis lebih lanjut mengenai keamanan dan khasiat gel lidah buaya dalam pengobatan pasien dengan diabetes melitus tipe 2, sehingga perlu penelitian lebih banyak yang membahas bioaktivitas dan mekanisme anti-hiperglikemik dari acemannan (Benzie & Wachtel-Galor, 2012; Huseini et al., 2012).

B. Katekin dalam Tanaman Teh (*Camelia sinensis*)

Daun teh mengandung 30-40 persen polifenol yang sebagian besar dikenal sebagai katekin ($C_6H_6O_2$) dimana merupakan komponen utama daun teh, yang mendominasi sekitar 30% berat kering teh. Katekin pada teh merupakan senyawa yang sangat kompleks. Katekin tersusun sebagian besar atas senyawa-senyawa sebagai berikut: katekin, epikatekin, epikatekin galat, epigalokatekin, epigalokatekin galat, galokatekin galat. Di antara keenam katekin tersebut epigalokatekin dan galatnya merupakan bahan terbanyak (Yamanishi, 1995). Senyawa polifenol adalah kandungan aktif teh hijau yang memiliki efek terhadap sistem imun. Daun teh hijau kering memiliki kandungan 15 – 30% senyawa polifenol yang terdiri dari *Epigallocatechin gallate (EGCg)* sebanyak 59,04%, *Epigallocatechin (EGC)* sebanyak 19,28%, *Epicatechin-gallate (ECg)* 13,69%, *Epicatechin (EC)* 6,39% dan *Gallocatechin (GC)* 1,60%. Senyawa murni dari komponen teh hijau tersebut sudah ada di pasaran. Kelima jenis katekin tersebut memiliki kemampuan yang berbeda apabila ditinjau dari efek biologinya sebagai anti mikroba dan anti kanker. Konsentrasi katekin sangat tergantung umur daun. Pucuk dan daun pertama paling kaya galat katekin (Tanizawa, et al., 1984). Kadar katekin bervariasi menurut varietas yang berbeda. *Epigallocatechin gallate (EGCg)* adalah jenis katekin yang paling banyak dan paling aktif yang ditemukan pada the hijau. Daun the hijau kering memiliki kandungan *Epigallocatechin gallate* sebanyak

59,04%.

Penelitian tentang farmakokinetik polifenol teh hijau dan EGCg dilaporkan bahwa setelah pemberian EGCg dan polyphenon E per oral pada orang sehat masing-masing dengan dosis tunggal 200, 400, 600 dan 800 mg (berdasar kandungan EGCg) maka setelah 24 jam didapatkan kadar EGCg bebas dalam plasma sebesar 22,5 / 21,9 ; 35,4 / 52,2 ; 101,9 / 79,7 dan 167,1 / 161,4 ng/ml. *Epigallocatechin gallate* (EGCg) merupakan katekin utama yang terdapat di ekstrak daun teh dan merupakan bentuk yang paling aktif di antara semua jenis katekin serta memiliki efek biologi yang paling besar dibandingkan katekin yang lain.

Tabel 2.1 Komponen utama katekin daun teh segar

Komponen	Kadar katekin (% bk)
(+)-Katekin	1 – 2
(-)-Epikatekin	1 – 3
(-)-Epikatekin galat	3 – 6
(+)-Gallokatekin	1 – 3
(-)-Epigallokatekin	3 – 6
(-)-Epigallokatekin galat	7 – 13
Total	16 – 30

Sumber: Bokuchava dan Skobeleva, 1969; Lunder, 1989; Graham, 1992; Price dan Spitzer, 1993; Wang dan Helliwell, 2000

Tes mutagenisitas digunakan untuk mendeteksi sifat antikarsinogenik (antikanker) teh dan komponen kimiawi (catechin) yang ada di dalamnya. Riset yang dilakukan oleh Chen (1992) dan Han et al (1997) menunjukkan, teh dan catechin secara signifikan dapat menghambat mutagenesis. Efek positif ini juga terkait erat dengan dosis yang digunakan, semakin tinggi teh dan konsentrasi catechin hasilnya semakin baik (terjadi hambatan mutasi gen). Dalam percobaan binatang, muncul dugaan-dugaan mekanisme catechin dalam menghambat terbentuknya

tumor dan kanker. Hipotesis utama adalah efek antioksidan dari catechin berdampak positif terhadap pencegahan tumor atau kanker. Mekanisme lainnya adalah catechin menghambat proses nitrosasi. Sebagaimana diketahui asupan nitrit ke dalam tubuh akan menyebabkan terbentuknya nitrosamine yang bersifat karsinogenik dan kehadiran catechin mungkin dapat mengurangi proses terjadinya nitrosamine.

Hipotesis selanjutnya adalah catechin dapat mencegah terbentuknya ikatan kovalen antara zat karsinogen dengan DNA sel, dengan demikian sel-sel tubuh akan terhindar dari kerusakan. Mengingat terbentuknya sel-sel kanker pada binatang mungkin berbeda dengan manusia, maka riset pada manusia sebagai uji klinik perlu untuk dipertimbangkan.

Penyakit degeneratif lain yang dapat dicegah dengan konsumsi catechin (teh) adalah penyakit jantung koroner. Studi di Belanda menunjukkan, mereka yang minum dua cangkir teh sehari berisiko setengahnya meninggal akibat penyakit jantung dibandingkan dengan yang minum teh lebih sedikit. Risiko terserang stroke juga lebih kecil pada peminum teh, sebagaimana ditunjukkan pada sebuah studi di Jepang.

Polifenol teh hijau, EGCg serta EGC pada dosis tertentu memiliki efek sebagai imunomodulator pada mencit yang diimunisasi dengan *Listeria monocytogenes*, dinilai dari peningkatan aktifitas fagositosis makrofag, peningkatan produk NO dan ROI dari makrofag serta penurunan jumlah kuman dari kultur jaringan hepar. Efek terbaik sebagai imunomodulator tampak pada polifenol teh hijau yaitu *polyphenon-60* dosis 3 mg. LD₅₀ untuk *Polyphenon-60* sebesar 150 mg untuk mencit berat 20 gram, setara dengan 7.500 mg/kgBB, yang berarti toksisitanya rendah. *Polyphenon-60* tidak menyebabkan kerusakan pada hepar dan ginjal, hanya pada dosis 150 mg dan 300 mg tampak

adanya jejas berupa pembengkakan sel hepar serta sel tubulus ginjal.

Efek polifenol teh hijau serta komponen aktifnya yaitu EGCg dan EGC terhadap mekanisme pertahanan tubuh untuk melawan infeksi bakteri sudah diketahui. Dengan demikian maka efek imunomodulator dapat dibuktikan dan proyeksi pemakaian pada manusia dengan infeksi kuman intra seluler akan sangat besar, karena manfaatnya juga besar, namun sebelumnya perlu diberikan pada manusia sehat sebagai sukarelawan, yang akan dilakukan pada tahun ke tiga.

Teh hijau yang diminum selama 2 minggu dapat meningkatkan ketahanan limfosit dari penderita diabetes terhadap kerusakan DNA akibat *standard oxidative chalange* dengan hidrogen peroksida. Efek tersebut dibutuhkan oleh sistem imun sebab pada penderita yang terinfeksi bakteri terjadi peningkatan produksi senyawa oksigen reaktif. Teh hijau juga dapat meningkatkan respons proliferasi limfosit, meningkatkan daya fagositosis makrofag dan meningkatkan sekresi IL-12 makrofag pada mencit yang diinokulasi *L.monocytogenes*. Dari penelitian-penelitian tersebut di atas, belum ada yang meneliti tentang efek dari ekstrak polifenol atau masing-masing komponen polifenol yaitu EGCg (kandungan sebesar 59,04 %) dan EGC (kandungan sebesar 19,28%) terhadap proses pembunuhan bakteri (*bacterial killing*) oleh makrofag.

Senyawa polifenol dilaporkan mempunyai efek meningkatkan proliferasi limfosit, meningkatkan produksi IL-12 dan meningkatkan fagositosis, maka diperkirakan bahwa senyawa polifenol akan memberikan efek yang menguntungkan kepada rangkaian imunitas seluler seperti yang disebutkan diatas. Sehingga *bacterial killing* juga akan meningkat dan efeknya sebagai imunomodulator.

Teh hijau meningkatkan respons proliferasi limfosit dan meningkatkan daya fagositosis makrofag Pada penelitian

tersebut mencit diberikan minuman tambahan 70 mg teh hijau setiap hari selama 4 minggu kemudian diinokulasi dengan *Listeria monocytogenes* intra peritoneal. Perlakuan tersebut meningkatkan kemampuan fagositosis makrofag dan respons proliferasi limfosit. Johan dkk (2001) juga telah melaporkan bahwa pemberian polifenol teh hijau pada mencit yang diinokulasi dengan *L. monocytogenes* ternyata meningkatkan kemampuan makrofag dalam memfagosit partikel latex, meningkatkan sekresi IL-12 dari makrofag serta meningkatkan respons proliferasi limfosit limpa.

Epigallocatechin gallate memiliki efek antikanker, antimikroba, antioksidan dan anti alergi. EGCg dikenal memiliki efek imunomodulator setelah diketahui bioavailibilitasnya di plasma sangat tinggi setelah seseorang minum teh. Pemberian EGCg in vitro diketahui dapat meningkatkan produksi interterleukin-12 dan interferon gamma (IFN- γ) serta menurunkan produksi interleukin-10 pada kultur makrofag. EGCg juga dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast pada tikus yang disensitisasi albumin. Efek imunomodulatoir EGCg terhadap sel imun terutama sel TH2 belum diteliti secara rinci, meskipun EGCg dikenal sebagai anti alergi.

Polifenol teh hijau dapat membantu proses fagositosis dengan cara menghambat kerja enzim hialuronidase. Enzim tersebut berperan mengakibatkan kerusakan membran fagosit ketika memfagositosis bacteria sehingga kemampuan fagositosis hilang. Dengan penghambatan enzim hialuronidase maka makrofag akan tetap berfungsi dengan baik.

Teh hijau dapat meningkatkan ketahanan limfosit dari penderita diabetes terhadap kerusakan DNA akibat *standard oxidative chalange* dengan hidrogen peroksida apabila penderita tersebut telah meminum teh hijau selama 2 minggu. Efek tersebut dibutuhkan sitem imun sebab

pada penderita yang terinfeksi bakteri terjadi peningkatan produksi senyawa oksigen reaktif. Kadar polifenol dalam plasma dari penderita tersebut meningkat dari 5,6 ng/ml menjadi 72,1 ng/ml. Berkurangnya kerusakan DNA tidak berhubungan dengan kadar vitamin C, karoten dan vitamin E dalam plasma. Sehingga dapat disimpulkan bahwa efek biologik tersebut berhubungan dengan kadar polifenol teh hijau dalam plasma.

Katekin adalah antioksidan yang kuat, lebih kuat daripada vitamin E, C, dan betakaroten. Di dalam teh terdapat beberapa jenis catechin, yaitu epigallocatechin-gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin-gallate (ECG), galocatechin, dan catechin. Katekin diketahui memiliki efek terhadap sistem imun. Katekin teh hijau dapat meningkatkan ketahanan limfosit dari penderita diabetes terhadap kerusakan DNA akibat *standard oxidative challenge* dengan hidrogen peroksida apabila penderita tersebut telah meminum teh hijau selama 2 minggu. Efek tersebut dibuktikan sistem imun sebab pada penderita yang terinfeksi bakteri terjadi peningkatan produksi senyawa oksigen reaktif. Kadar katekin dalam plasma dari penderita tersebut meningkat dari 5,6 ng/ml menjadi 72,1 ng/ml. Berkurangnya kerusakan DNA limfosit tersebut tidak berhubungan dengan kadar vitamin C, karoten dan vitamin E plasma. Sehingga dapat disimpulkan bahwa efek biologik tersebut berhubungan dengan kadar katekin teh hijau dalam plasma.

Peranan katekin terhadap produksi sitokin sel TH1 dan TH2 yang dihubungkan dengan kemampuannya menghambat aktivasi nuclear factor- κ B (NF- κ B) telah diteliti oleh Tomita dkk (2000) dimana pada penelitiannya dikemukakan katekindan pigmen teh dapat menghambat aktivasi NF- κ B, yaitu faktor transkripsi yang terlibat dalam regulasi molekuler sejumlah inflamatori sitokin, Sitokin yang diproduksi sel TH1 sel CD4⁺, yaitu IL-2 dan IFN- γ ,

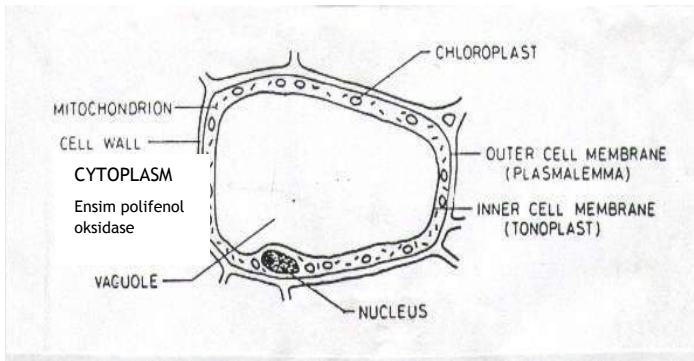
yang membutuhkan NF- κ B untuk ekspresi gennya secara selektif akan dihambat oleh katekin. Katekin tersebut akan menekan sekresi IL-2, ekspresi gen IL-2 dan aktivasi NF- κ B di limpa mencit yang kaya akan sel T CD4⁺. Katekin juga akan menghambat produksi IFN- γ -mRNA. Selain berpengaruh terhadap sel TH1, katekin sewara tidak diduga juga menghambat ekspresi sitokin sel TH2, IL-4 dan IL-5, yang hanya sedikit memiliki NF- κ B di promoternya. Dari penelitiannya tersebut disimpulkan bahwa NF- κ B mungkin merupakan salah satu dari banyak faktor transkripsi yang dihambat oleh katekin.

EGC terbukti juga dapat menstimulasi produksi *Interleukin-1 alpha* (IL-1 α), *interleukin-1 beta* (IL-1 β), dan *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) oleh kultur mononuklear perifer. Pemberian *Epigallocatechin gallate* in vitro dapat meningkatkan produksi *interleukin-12* dan interferon-gamma (IFN- γ) serta menurunkan produksi interleukin 10 pada kultur makrofag. Pemberian EGC 0,5 ug/ml dapat menghambat pertumbuhan *Legionella pneumophila* dalam kultur makrofag. Efek tersebut hilang apabila dilakukan penambahan antibodi anti IFN-gamma dan anti-TNF-alpha. EGCg juga memiliki efek proteksi terhadap radiasi ultraviolet yang menyebabkan immunosupresi dan immunotoleransi, dimana EGCg akan menyebabkan berkurangnya produksi IL-10 dan meningkatnya produksi IL-12 di sel epidermal dan dermal.

EGCg teh hijau sebagai anti alergi juga sudah mulai banyak dibuktikan meskipun belum dilihat dari polarisasi TH1 dan TH2. Polifenol dari ekstrak teh hijau, teh hitam dan teh oolong dapat menghambat reaksi passive cutaneous anaphylaxis (PCA) pada mencit. Menurut penelitian tersebut terbukti semua komponen polifenol yang dicobakan antara lain *Epigallocatechin gallate* (EGCg), *Epicatechin gallate* (ECg) dan *Epigallocatechin* (EGC), EGCg memiliki efek penghambat paling besar dibandingkan ECg

dan EGC. Penelitian Shiozaki membuktikan bahwa EGCg dapat mencegah terjadinya reaksi alergi tipe I. EGCg sebagai anti alergi dibuktikan juga oleh Tachibana H dkk (2000), dimana EGCg mampu menghambat produksi histamin dengan jelana menghambat kerja enzim histidin decarboxylase dan menghambat proses degranulasi basofil pada basofil manusia. Penelitian lain yang dilakukan Sano dkk (1999) juga membuktikan bahwa pemberian secara oral dua derivat catechin yaitu *Epigallocatechin 3-O-(3-O-methyl) gallate* dan *Epigallocatechin 3-O-(4-O-methyl) gallate* dari teh oolong dapat menghambat reaksi alergi tipe I pada mencit yang disensitisasi dengan ovalbumin dan *incomplete Freund's adjuvant*.

Bagian-bagian sel di dalam daun teh disajikan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Sel daun teh

Komposisi daun teh sangatlah kompleks, lebih dari 400 komponen kimiawi telah diidentifikasi terkandung dalam daun teh. Jumlah komponen kimiawi ini berbeda-beda tergantung tanah, iklim, dan usia daun teh ketika dipetik. Daun teh juga mengandung kafein, theobromine, dan polisakarida dalam jumlah relatif sedikit. Unsur gizi dalam daun teh adalah lemak (2 persen), protein (15 persen), dan

karbohidrat (25 persen). Pada dasarnya daun teh mengandung air dan bahan-bahan selain air atau sering disebut bahan-bahan kering. Sebagian dari bahan ini bersifat tidak larut dalam air dan sebagian lagi dapat larut. Bhatia (1963), memberikan gambaran mengenai komposisi pucuk teh segar seperti pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi pucuk teh segar (% berat kering)

Bagian Dari Sel	Senyawa	Total	Yang Larut Dalam Air
Dinding Sel (<i>Cell wall</i>)	Selulosa	24,0	0,0
	Hemiselulosa	6,5	2,3
	Lignin		
	Pektin		
Protoplasma (<i>Outer cell membrane</i>)	Protein	17,0	0,0
	Lemak	8,0	
	Tepung	0,5	0,0
Vakuola (<i>Inner cell membrane</i>)	Polifenol/Katekin	22,0	22,0
	Kafein	4,0	4,0
	Asam amino	7,0	7,0
	Asam gula	3,0	3,0
	Asam organik	3,0	3,0
	Abu/mineral	5,0	4,0
Jumlah		100,0	45,3

Sumber: Bhatia, 1963

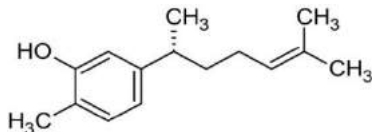
C. Xanthorizol dan Curcumin dalam Temulawak

Temulawak merupakan tanaman obat berupa tumbuhan rumpun berbatang semu. Komponen utama kandungan zat yang terdapat dalam rimpang temulawak adalah zat kuning yang disebut kurkumin dan juga protein, pati, serta zat-zat atsiri. Rimpang yang dihasilkan dari dataran tinggi lebih banyak kandungan minyak atsirinya dibandingkan dengan rimpang dari dataran rendah. Kelebihan rimpang yang dihasilkan dari dataran rendah antgara lain kandungan patinya lebih tinggi dibandingkan rimpang dari dataran rendah. Menurut Santoso (1998),

komponen utama kandungan zat temulawak adalah kurkumin dan minyak atsiri. Kurkumin bermanfaat sebagai *acnevulgaris*, *anti inflamasi* (anti radang) dan *anti hepatoksis* (anti keracunan empedu). Jantan *et al.* (2012) melaporkan minyak atsiri temulawak yang ditemukan pada rhizoma *Curcuma xanthorrhiza* antara lain: *athujene*, *α-pinene*, *camphene*, *β-pinene*, *cis-pinane*, *myrcene*, *aphellandrene*, *α-terpinene*, *1,8-cineole*, *(z)-β-ocimene*, *γ-terpinene*, *6,7-epoxymyrcene*, *camphor*, *cis-dehydroβ-terpineol*, *α-terpineol*, *terpinen-4-ol*, *ethyl-4e-octenoate*, *dihydro citronellol acetate*, *α-cubebene*, *(z)-β-damascenone*, *n-undecanol*, *geranyl acetate*, *β-cubebene*, *methyl perillate*, *(z)-isoeugenol*, *α-cis-bergamotene*, *methyl undecanoate*, *β-humulene*, *(z)-β-farnesene*, *γ-elemene*, *(E)-β-farnesene*, *(E)-ethyl cinnamate*, *arcurcumene*, *γ-curcumene*, *β-bisabolene*, *(z)-γ-bisabolene*, *β-curcumene*, *β-sesquiphellandrene*, *1,10-decanediol*, *(z)-isoeugenol acetate*, *caryophyllene oxide*, *thujopsan-2-a-ol*, *sesquithuriferol*, *1,10-di-epi-cubenol*, *citronellyl pentanoate*, *cis-cadin-4-en-7-ol*, *cubenol*, *α-eudesmol*, *(e)-amyl cinnamic alcohol*, *(e)-citronellyl tiglate*, *β-bisabolol*, *ar-curcumen-15-al*, *1-phenyl-hepta-1,3,5-triene*, *4-hydroxy-3-methoxy-cinnamaldehyde*, *chamazulene*, *(e, z)-farnesol*, *abisabolol oxide a*, *xanthorrhizol*, *butyl dodecanoate*

Xanthorrhizol (XNT) merupakan senyawa bioaktif yang diisolasi dari minyak atsiri rimpang *Curcuma xanthorrhizza Roxb.* (Jantan *et al.*, 2012). *Xanthorrhizol* merupakan suatu senyawa seskiterpenoid golongan bisabolen (bisabolane-type sesquiterpenoid). Struktur kimia *xanthorrhizol* adalah *2-methyl-5-[(2R)-6-methylhept-5-en-2-yl]phenol* (gambar 2.8).

Noor Aini Habibah
Ari Yuniastuti



Gambar 2.8 Struktur senyawa bioaktif *Xanthorrhizol*

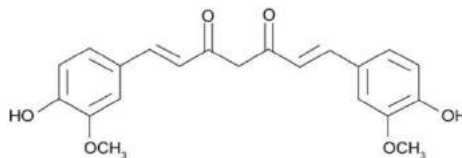
Beberapa penelitian mengevaluasi bahwa XNT memiliki aktivitas sebagai antimikroba, anti-inflamasi, antioksidan, antihiperglikemik, antihipertensi, antiplatelet, nefroprotektif dan hepatoprotektif, estrogenik dan antiestrogenik (Oon *et al.*, 2015). Yuniastuti *et al* (2010) melaporkan bahwa XNT menunjukkan aktivitas antibakteri dalam menghambat bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* yang resisten methicillin (MRSA), bakteri Gram-negatif *Escherichia coli*.

Pertama kali dilaporkan bahwa XNT memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi berdasarkan hasil penelitian *in vitro*, menunjukkan bahwa sel makrofag leukemia monosit tikus yang diaktifkan lipopolisakarida RAW 264,7 (Oon *et al.*, 2015). XNT mereduksi siklooksigenase-2 (COX-2) dan nitrat yang dapat menginduksi oksida sintase (iNOS) dengan aktivitas menghambat produksi prostaglandin E2 (PGE2) dan oksida nitrat (NO) masing-masing dalam sel makrofag tikus yang diaktifkan lipopolisakarida RAW 264.7. Hasil ini menunjukkan bahwa kemungkinan XNT merupakan penghambat COX-2 dan iNOS yang kuat. Hasil penelitian lain menemukan bahwa XNT menghambat COX-2, iNOS, sitokin proinflamasi interleukin-6 (IL-6) dan tumor necrosis factor- α (TNF- α) pada sel mikroglia yang diaktifkan. Jelas bahwa XNT mampu menghambat COX-2 dan iNOS.

Sifat antioksidan XNT berkontribusi pada efek penghambatan oksidasi saraf dan LDL. XNT telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan secara *in vitro* terhadap murine hippocampal neuronal sel line HT22. dan oksidasi lowdensity lipoprotein (LDL) manusia akibat adanya logam

tembaga. Dalam sel line HT22 neuron hipokampus murine, XNT mengurangi kerusakan oksidatif yang dimediasi radikal. Sifat antioksidannya memberikan efek neuroprotektif yang kuat dengan menekan peroksidasi lipid yang diinduksi hidrogen peroksida (H₂O₂) pada homogenat otak tikus, yang diinduksi glutamat neurotoksisitas dan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dalam sel HT22. Hasil ini menunjukkan bahwa XNT bisa menjadi agen ampuh untuk mengobati penyakit Alzheimer dan ROS terkait penyakit neurologis.

Senyawa curcumin merupakan komponen utama dalam spesies *Curcuma*, berbagi fitur struktural bifenil terkait alkil tak jenuh yang umum dan bertanggung jawab atas efek farmakologis utama mereka. Curcumin [diferuloylmethane, 1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione] (gambar 2.8).. Kurkumin memiliki struktur terkonjugasi yang unik termasuk dua termetilasi fenol dihubungkan oleh bentuk enol dari heptadiene-3,5-diketone yang memberikan senyawa warna kuning cerah.



Gambar 2.9 Struktur senyawa bioaktif *Curcumin*

Senyawa curkumin merupakan senyawa bioaktif umumnya pada spesies *Curcuma* dan telah dilaporkan memiliki beberapa aktivitas biologis termasuk antioksidan dan anti inflamasi (Itokawa *et al.*, 2008). Selain efek anti-inflamasi yang terkenal, curcumin juga memiliki efek terapeutik lain pada banyak target biologis [18]. Aktivitas lain dari kurkumin termasuk penurunan kadar kolesterol darah, pencegahan oksidasi lipoprotein densitas rendah

(LDL), penghambatan agregasi trombosit, penekanan trombosis dan infark miokard, penekanan gejala yang berhubungan dengan diabetes tipe II, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis dan penyakit Alzheimer, penghambatan replikasi human immunodeficiency virus (HIV), peningkatan penyembuhan luka, peningkatan empedu sekresi, perlindungan dari cedera hati, pembentukan katarak dan toksisitas dan fibrosis paru, pameran antileishmaniasis dan sifat anti-aterosklerotik, juga sebagai pencegahan dan pengobatan kanker [18].

Curcumin (2) adalah salah satu dari beberapa anti-oksidan yang memiliki hidroksi fenolik dan gugus -diketon dalam satu molekul. Konjugasinya yang unik struktur termasuk dua fenol dan bentuk enol dari diketon. Oleh karena itu, ia mungkin memiliki perangkap radikal yang khas kemampuan dan aktivitas anti-oksidan pemutus rantai. Curcumin adalah anti-oksidan kuat yang mekanisme kerjanya belum dipahami dengan baik.

D. Likopen dalam buah Tomat

Tomat merupakan salah satu buah-buahan yang banyak dikonsumsi masyarakat, baik dimakan secara langsung maupun diolah menjadi sayur, jus atau bentuk *sauce*. Banyak sekali kandungan senyawa bioaktif yang berguna untuk kesehatan kita, seperti : Carotenoid (*lycopene* & beta-carotene), Tochoferol dari Tomato Seed Oil, Serat tomat, Phenol dan berbagai macam enzim.

Likopen ($C_{40}H_{56}$) adalah senyawa hidrokarbon rantai terbuka dengan 11 ikatan rangkap konjugasi. Lycopene merupakan senyawa kimia yang berperan sebagai pigment warna merah pada tomat dan berbagai senyawa lain. Likopen merupakan salah satu anggota keluarga karotenoid dengan formula molekuler ($C_{40}H_{56}$) dan bobot molekuler 536,85 dalton. Hidrokarbon karotenoid ini memiliki rantai terbuka, terdiri dari 40 atom karbon yang

tersusun linier dengan 11 ikatan rangkap terkonjugasi dan 2 ikatan rangkap tak terkonjugasi. Ikatan-ikatan ini dapat Likopen dapat mengalami isomerisasi *cis-trans* dan *all-trnas*. Tujuh puluh sembilan sampai dengan sembilan puluh satu persen (79-91%) dari likopen total yang terdapat pada produk-produk olahan tomat adalah dalam bentuk *all-trans* likopen, sementara > 50% likopen total yang dijumpai di serum dan 80-90% yang dijumpai di jaringan adalah dalam bentuk isomer *cis* likopen.

Dalam buah tomat segar, kandungan lycopene berkisar antara 430 - 2950 mg/kg tomat kering. Dan lycopene mewakili lebih dari 85% kandungan senyawa karotenoid didalam tomat, dan kulit tomat memiliki kandungan senyawa lycopene 5 kali lebih besar daripada bagian tomat yang lain.

Likopen merupakan karotenoid utama yang terdapat di dalam tomat, selain terdapat juga pada buah yang lain, seperti semangka dan jambu biji. Kandungan likopen dalam beberapa buah dan sayur disajikan pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kandungan Likopen dalam Beberapa Buah dan Sayur

Bahan Makanan	Jumlah ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)
Tomat Segar	3000-3100
Tomat rebus	9700
Jus tomat	8600-9300
Saos tomat	9900-17000
Semangka Anggur merah	4100-4900
Jambu biji	1500-3400
	5400

Sumber : Modifikasi dari Rissanne TH (2003)

Likopen juga merupakan karotenoid utama di dalam serum dan jaringan tubuh manusia. Tidak seperti karotenoid lain, likopen tidak mempunyai aktivitas provitamin A. Suatu hipotesis menyatakan bahwa karotenoid dapat mencegah atau memperlambat

perkembangan kanker dan penyakit degeneratif dengan bekerja sebagai antioksidan pemutus rantai. Karotenoid adalah sekelompok senyawa yang strukturnya berkaitan dengan beta karoten, suatu prekursor vitamin A. Walaupun sebagian besar beta karoten diubah menjadi vitamin A di sel mukosa usus, karotenoid juga diserap dan beredar di dalam darah (terikat ke lipoprotein). Karotenoid melindungi dari peroksidasi dengan bereaksi terhadap radikal hidroperoksil lemak.

Likopen mempunyai aktifitas sebagai antioksidan dan sebagai imunomodulator bagi tubuh. Likopen sebagai antioksidan mempunyai kemampuan untuk melawan kerusakan sel-sel tubuh akibat radikal bebas di dalam aliran darah engan mengurangi efek toksik dari spesies oksigen reaktif, sehingga diasosiasikan dengan penurunan resiko terjadinya berbagai macam penyakit, seperti kanker, penyakit kardiovaskular, penyakit neurodegeneratif dan penuaan. Penurunan resiko terhadap berbagai macam penyakit tersebut juga menmbulkan dugaan adanya peran likopen di dalam sistem imun, yaitu sebagai suatu imunomodulator.

Kegunaan dari likopen adalah sebagai berikut : Sifat antioksidan, Percusor daripada vitamin A, Mencegah penyakit kardiovaskular, Mencegah kanker, Mencegah diabetes, Mencegah osteoporosis, Memperbaiki fertilitas sperma pria.

Likopen diketahui berperan sebagai antikarsinogenik dan antiaterogenik melalui mekanisme non-oksidatif dan oksidatif. Aktivitas non-oksidatif likopen terlihat dalam keadaan hiperkolesterolemia. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa pemberian likopen dapat menurunkan sintesis kolesterol sebesar 73% (menghambat kerja enzim HMG-CoA reductase), peningkatan degradasi LDL sebesar 34% dan me ningkatkan aktivitas reseptor LDL makrofag. Penelitian terhadap 6 orang pria yang mendapat

suplementasi likopen 60 mg/hari selama 3 bulan menunjukkan penurunan konsentrasi kolesterol LDL. Beberapa penelitian *in vitro* maupun percobaan binatang menunjukkan peran likopen dalam memacu respon imunhumoral maupun seluler, memodulasi sel-sel imun dan molekul-molekul pen-signal. Likopen diduga mempunyai aktivitas anti-inflamasi melalui penekanan regulasi pengambilan monosit oleh molekul-molekul adesi pada permukaan endotel, menurunkan ukuran lesi (yang mengandung sel-sel imun) dan mengurangi pembentukan fatty streak pada aterogenesis. Penelitian kultur sel membuktikan bahwa likopen merupakan karotenoid yang paling efektif dalam menekan molekul adesi dan adesi monosit ke sel endotel.

Likopen yang mempunyai sejumlah ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan likopen meruapakan pemadam oksigen radikal yang paling kuat dibanding karotenoid yang lain. Aktivitas likopen sebagai antioksidan didukung oleh sejumlah penelitian *in vitro* maupun penelitian pada manusia. Penelitian *in vivo* membuktikan bahwa likopen merupakan pemadam *singlet oxygen* yang paling kuat dibanding beberapa karotenoid yang lain seperti alfa-karoten, beta-karoten dan lutein. Kemampuan likopen dalam memadamkan singlet oxygen dua kali lebih tinggi dibanding beta-karoten dan 10 kali lebih tinggi dibanding alfa-tokoferol. Konsentrasi likopen serum juga berbanding terbalik dengan *thiobarbituric acid-reactive serum* (TBRS), yaitu suatu indikator lipid terperoksidasi.

Penelitian pada manusia memperlihatkan peran likopen dalam menetralkan stres metabolik yang timbul setelah makan dimana dijumpai konsentrasi likopen serum postprandial yang selalu lebih rendah dibanding keadaan puasa.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Stahl dan Sies (1995) menyebutkan bahwa kandungan senyawa dalam

tomat memiliki kemampuan untuk menghambat oksidasi pada tahap progresi dalam karsinogenesis. Selain itu, Levy dkk. (1995) menyatakan bahwa senyawa dalam tomat mampu menghambat pertumbuhan dari sel kanker endometrial, payudara dan paru-paru. Salah satu senyawa dalam tomat yang diduga berperan dalam pengobatan tersebut adalah likopen (Bohm, dkk., 1995). Kandungan likopen dalam 100 gram buah tomat mentah rata-rata mengandung 3-5 mg likopen (Asrorudin, 2004). Sehingga dapat diperkirakan bahwa senyawa likopen dalam tomat dapat bermanfaat sebagai agen kemopreventif.

Mekanisme kemopreventif dari likopen menjelaskan besarnya potensial likopen dalam tomat sebagai agen kemopreventif. Kandungan-kandungan dalam tomat terutama likopen mampu menghambat aktivasi karsinogen melalui mekanisme oksidatif (daya antioksidan) dan mekanisme non oksidatif. Likopen juga mampu menjadi *blocking agent* maupun *suppressing agent* yang memungkinkan penerapannya bagi masyarakat luas sebagai bentuk pencegahan inisiasi kanker, bahkan mampu dikembangkan secara klinis untuk menjadi pencegah keganasan sel malignan bagi penderita kanker. Penerapan tomat sebagai kemopreventif sejalan dengan pola konsumsi likopen sehari-hari. Likopen tidak disintesis di dalam tubuh manusia tetapi fluktuasi keberadaannya dalam serum sangat mempengaruhi kesehatan manusia. Idealnya orang mengkonsumsi 7 mg likopen per hari (Agarwal dan Rao, 1999). Oleh karena itu dibutuhkan inovasi produk untuk mengefisienkan konsumsi likopen bagi masyarakat luas maupun penderita kanker.

Berdasarkan sifat dari senyawa kimia yang terdapat dalam tomat, maka dapat dibuat modifikasi pengolahan yang lebih menarik namun tidak merusak senyawa aktif yang ada di dalamnya dan tetap berkhasiat penuh. Beberapa teknik pengolahan yang dapat diterapkan dalam

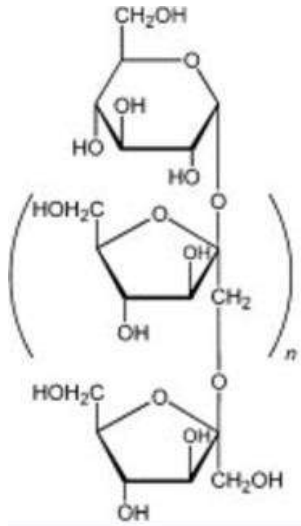
modifikasi buah tomat adalah dengan membuat sediaan menjadi bentuk tablet hisap ekstrak tomat dengan komponen utama yaitu likopen, juga dapat diolah dalam taraf produksi rumah tangga menjadi berbagai macam bentuk olahan, seperti selai, agar, jus dan sebagainya. Dari hal tersebut diharapkan dapat meningkatkan konsumsi masyarakat terhadap tomat.

Selain dari modifikasi pengolahan tomat, juga perlu ditingkatkan produksi dan Budidaya tomat di Indonesia, agar dapat memenuhi kebutuhan bahan baku sendiri. Melihat kenyataan bahwa rata-rata produksi tomat di Indonesia masih lebih rendah dibandingkan dengan negara Taiwan, Saudi Arabia dan India pada tahun 1992. Untuk itu perlu dilakukan pengoptimalan produksi tomat dengan menggunakan metode yang cocok dan efektif. Salah satu metode budidaya yang dapat meningkatkan produksi tomat dan tidak merusak kandungan senyawa di dalamnya adalah menggunakan teknik pertanian organik. Menurut penelitian yang dilakukan Oleh Universitas California menyebutkan bahwa Jumlah *quersetin* dan *kaempferol* lebih tinggi 79% pada tomat organik dibandingkan yang non organik. Hal ini juga sesuai dengan program pemerintah yaitu “Go Organik 2010” dengan target negara Indonesia mampu mengeksport produk organik pada tahun 2010. Untuk itu diperlukan sosialisasi kepada masyarakat mengenai cara pertanian organik dan keuntungan-keuntungan yang diperoleh, sehingga para petani mau untuk beralih ke pertanian organik.

E. Inulin dan Diosgenin dalam Umbi Gembili

Inuli merupakan senyawa bioaktif dari umbi gembili dan merupakan salah satu jenis prebiotik, selain Fruktooligosakarida (FOS), dan rafinosa (Lestari et al., 2013). Inulin ditemukan lebih dari dua berabad-abad yang lalu (Mensink et al., 2015). Inulin terutama terdiri dari

polimer fruktosa terikat oleh fruktofuranosida rantai- yang tidak dapat dihidrolisis dalam saluran pencernaan. Inulin merupakan salah satu komponen bahan pangan yang banyak dimanfaatkan sebagai pangan fungsional karena memiliki kandungan serat yang tinggi. Inulin bersifat prebiotik dimana inulin tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan, tetapi di dalam usus besar inulin akan terfermentasi oleh bakteri *bifidobacterium* yang banyak memberikan manfaat kesehatan pada tubuh (Pandiyani *et al.*, 2012) Inulin sering digunakan dalam bidang medis dan farmasi karena dapat mengurangi resiko kanker usus besar dan menormalkan kadar gula darah pada penderita diabetes (Frank *et al.*, 2005). Inulin diketahui dapat membantu memetabolisme lemak sehingga mempengaruhi penurunan kolesterol dan trigliserida (Kaur and Gupta, 2002).



Gambar 2.10 Struktur Kimia Inulin

Efek kesehatan dari inulin telah dibuktikan melalui studi ilmiah (Abed *et al.*, 2016). Inulin bertindak sebagai

serat makanan dan prebiotik karena sifatnya di mana fruktosa bagian bergabung dengan β (2-1)-D-fructosyl hubungan. Properti ini membuatnya tahan terhadap pencernaan di usus kecil manusia karena konfigurasi . Dengan demikian, dapat dicerna oleh bakteri yang ada di usus besar yang mengubah inulin menjadi lemak rantai pendek asam, terutama asetat, propionat, dan butirat. Asetat akan dimetabolisme dalam otot untuk menghasilkan adenosin-5'-trifosfat (ATP), sedangkan propionat akan diangkut ke hati untuk glukoneogenesis. Butirat adalah sumber energi penting untuk kolonosit dan sifat anti-tumor (Miremadi & Shah, 2012). Karena sifatnya yang tidak dapat dicerna, inulin menunjukkan nilai kalori rendah dengan 1,5 kkal/g atau 6,3 kJ/g (Shoaib et al., 2016). Sifat non-cerna inulin juga berperan dalam mencegah sembelit dengan memberikan efek mengembungkan tinja yang mirip dengan serat larut lainnya, seperti pektin dan guar gusi. Inulin juga dapat mengurangi risiko aterosklerosis dengan menurunkan triasilgliserol (TAG) dalam darah (Yuniastuti, et al., 2020). Studi pada hewan pengerat menunjukkan bahwa konsumsi inulin dapat menurunkan TAG sebesar menurunkan pemecahan lipid di hati kemungkinan mekanisme utama baik pada manusia dan hewan. Sedangkan mekanisme bagaimana inulin mempengaruhi metabolisme lipid masih dalam penelitian (Shoaib dkk., 2016).

Inulin merupakan senyawa polimer fruktan yang penyusun utamanya terdiri dari unit-unit fruktosa dengan ikatan β (2 \rightarrow 1) dan memiliki derajat polimerisasi (DP) antara 2-60. Inulin merupakan salah satu komponen bahan pangan yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional, sering digunakan dalam medis dan farmasi karena dapat mengurangi resiko kanker usus besar dan menormalkan kadar gula darah pada penderita diabetes. Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) merupakan umbi

dari keluarga *Dioscoreacea*, yang memiliki kandungan inulin tinggi, sebesar 14,629% bk dan 19,9% (Yuniastuti *et al.*, 2017) Inulin gembili memiliki potensi sebagai agen antikanker kolorektal, secara *in silico* dengan nilai energi ikatan yang terbentuk sebesar -9,62 kkal/mol (COX-2) dan -5,48 kkal/mol (Caspase-3) (Yuniastuti *et al.*, 2019).

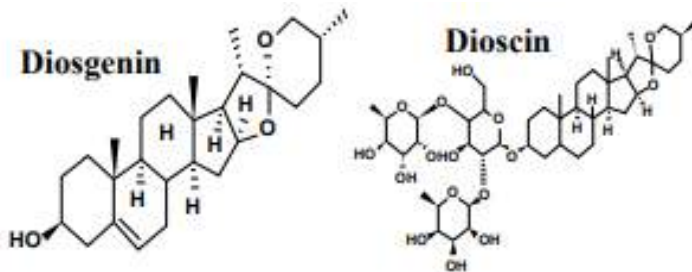
Umumnya golongan *dioscorea* mengandung senyawa bioaktif atau senyawa fungsional (Harijono *et al.*, 2010; Mar'atirrosyidah *et al.*, 2012). Potensi inulin sebagai kandidat antidiabetik yang efektif terhadap protein GLP-1 perlu dieksplor. *Human Intestinal Absorption* (HIA) adalah prediksi absorpsi senyawa inulin pada dinding usus Berdasarkan hasil prediksi HIA (*Human Intestine Absorption*) pada tabel 1 menunjukkan bahwa inulin memiliki potensi terabsorpsi di usus dengan nilai 89,70%, sukrosa 85,65%, kuersetin 86,76% dan Flavon 3-ol 88,54%. Nilai yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut mampu terabsorpsi dengan baik pada dinding usus karena memiliki nilai lebih dari 70%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nerkar (2012) bahwa jika suatu senyawa memiliki prediksi terabsorpsi di usus lebih dari 70% maka dinyatakan kemampuan terabsorpsinya tinggi. inulin memiliki nilai binding affinity -8,5 kkal/mol dan terbukti memiliki aktivitas sedang sebagai antidiabetik. Inulin. Juga memiliki kemampuan terabsorpsi baik 89,70% di usus (Yuniastuti *et al.*, 2019).

Diosgenin (Gambar 2.11) merupakan senyawa yang ditemukan di umbi-umbian (*Dioscorea spp.*), termasuk senyawa bioaktif steroid saponon dari gugus triterpen dan sangat diperlukan untuk industri farmasi. Aglikon yang dibentuk dari hidrolisis saponin terhadap disogenin adalah dioscin (Gambar 2.11). Diosgenin berfungsi sebagai bahan awal yang penting untuk produksi kortikosteroid, hormon seksual, kontrasepsi oral serta obat steroid lainnya melalui hemisynthesis. Diosgenin adalah prekursor berbagai

steroid sintetis obat yang banyak digunakan dalam industri farmasi. Selama dua dekade terakhir, serangkaian studi pra-klinis dan mekanistik telah dilakukan secara independen untuk memahami peran menguntungkan diosgenin terhadap penyakit metabolik (hiperkolesterolemia, dislipidemia, diabetes dan obesitas), peradangan dan kanker. Dalam model eksperimental dari obesitas, diosgenin menurunkan plasma dan trigliserida hati dan meningkatkan homeostasis glukosa, diferensiasi adiposit dan menghambat peradangan di jaringan adiposa.

Secara struktural, diosgenin [(25R)-spirost-5-en-3 β -ol] merupakan saponin spirostanol yang terdiri dari bagian gula hidrofilik terkait dengan aglikon steroid hidrofobik (Gambar 2.11). Diosgenin secara struktural mirip dengan kolesterol dan steroid lainnya. Sejak penemuannya, diosgenin merupakan prekursor utama tunggal dalam pembuatan steroid sintetis di bidang farmasi industri. Dalam penelitian terbaru menunjukkan bahwa senyawa spirostanol, terutama glikosida diosgenin menunjukkan aktivitas yang dapat menginduksi atau menghambat kontraksi rahim tikus berdasarkan (a) jumlah, panjang dan posisi rantai samping gula yang diikat oleh glikosida, dan (b) terkait dengan struktur aglikon (Yu et al., 2010). Fungsi terkait struktur diosgenin telah diuji secara ekstensif menggunakan sel kanker *in vitro*. Di dalam dibandingkan dengan saponin terkait dua struktur, hekogenin dan tigogenin, hanya diosgenin menyebabkan penghentian siklus sel yang terkait dengan apoptosis yang kuat secara *in vitro*. Aktivitas biologis diosgenin dan saponin steroid terkait struktural lainnya dan alkaloid diuji secara *in vitro* (Trouillas et al., 2005). Dengan menggunakan pemodelan molekul, konformasi spasial dan kapasitas transfer elektron dihitung dalam kaitannya dengan karakteristik struktural diosgenin yang diperlukan untuk memperoleh efeknya pada tingkat proliferasi, distribusi siklus dan

apoptosis sel; dan bioaktivitas anti-kanker diosgenin terbukti terkait dengan adanya gugus hetero-gula dan ikatan rangkap 5,6 dalam strukturnya (Trouillas et al., 2005). Selain itu, konformasi struktural pada atom karbon C-5 dan C-25 terbukti penting untuk aktivitas biologis diosgenin (Trouillas et al., 2005). Lebih jauh diperlukan studi untuk menilai hubungan struktur-fungsi diosgenin dan untuk memahami apakah dan bagaimana perubahan sintetik yang terjadi dapat meningkatkan aktivitas biologisnya yang mendukung perannya sebagai agen terapeutik.



Gambar 2.11 Struktur Kimia Diosgenin dan Disocin dari umbi Gembili (Heena&Lele, 2012)

Dioscorea sp. umbi ubi bersama dengan penyusunnya diosgenin telah terbukti memiliki aktivitas biologis terhadap beberapa penyakit metabolik (Ulbricht et al., 2007; Raju & Rao, 2009). Diosgenin menurunkan kolesterol, serum LDL dan fraksi HDL pada tikus yang diberi makan kolesterol, dan tidak berpengaruh pada kolesterol serum tikus normokolesterolemia. Selain itu, diosgenin menghambat penyerapan kolesterol, dan menekan pengambilannya dalam serum dan hati, dan akumulasinya di hati. Diosgenin menurunkan kolesterol plasma pada hiperkolesterolemia yang diinduksi diet tikus, ayam dan kelinci bila diberikan secara oral atau parenteral.

Baru-baru ini, ditunjukkan bahwa diosgenin (pada dosis oral 0,1% atau 0,5% dalam makanan untuk 6 minggu) menurunkan kadar kolesterol total dan meningkatkan kepadatan tinggi plasma kadar kolesterol lipoprotein (HDL) dalam plasma dan hati akibat diet tikus hiperkolesterolemia (Son et al., 2007).

Dalam sebuah penelitian yang mengevaluasi peran diosgenin sebagai anti-obesitas, spesies yang terkait dengan *Dioscorea villosa*, Tikus Sprague-Dawley yang diberi makanan yang mengandung 40% lemak sapi dan 5% ekstrak kering beku ubi memperoleh lebih sedikit berat badan dan jaringan adiposa daripada yang hanya menerima 40% diet lemak sapi (Kwon et al., 2003). Dalam penelitian yang sama ditunjukkan bahwa diosgenin menekan peningkatan kadar triasilgliserol darah yang bergantung waktu ketika secara oral diberikan dengan minyak jagung untuk tikus ICR, menunjukkan potensi penghambatan terhadap lemak penyerapan (Kwon et al., 2003).

Tinjauan sistemik berbasis bukti dengan jelas menunjukkan bahwa biji fenugreek (kaya akan kandungan diosgenin) memiliki peran penting dalam pengendalian penyakit metabolik seperti diabetes dan obesitas (Ulbricht et al., 2007). Selanjutnya, secara in vitro percobaan menggunakan adiposit 3T3-L1 menunjukkan bahwa diosgenin, mempromosikan diferensiasi adiposit 3T3-L1 untuk meningkatkan glukosa yang bergantung pada insulin serapan (Uemura et al., 2010). Dua studi klinis baru-baru ini diterbitkan menunjukkan sifat antiobesitas biji fenugreek. Pertama, double-blind acak terkontrol plasebo uji coba silang tiga periode (14 hari) dengan dua belas sukarelawan pria sehat, ditunjukkan bahwa ekstrak biji fenugreek secara selektif mengurangi konsumsi lemak spontan dibandingkan dengan kontrol plasebo (Chevassus et al., 2009). Namun, tidak ada efek pada berat badan,

kadar glukosa normal dan puasa, profil insulin dan lipid, dan skor skala analog visual nafsu makan / kenyang pada subjek yang menerima ekstrak biji fenugreek (Chevassus et al., 2009).

Dalam studi kedua, uji coba paralel acak terkontrol plasebo acak selama 6 minggu dengan tiga puluh sembilan sukarelawan pria kelebihan berat badan yang sehat, menunjukkan penurunan lemak makanan konsumsi pada subjek yang menerima dosis tetap ekstrak biji fenugreek dibandingkan dengan mereka yang menerima plasebo (Chevassus et al., 2010). Selain itu, mata pelajaran yang diterima ekstrak biji fenugreek juga menunjukkan penurunan rasio insulin/glukosa dalam serum subjek yang berpuasa (Chevassus et al., 2010). Jika digabungkan, kedua studi klinis ini memberikan bukti untuk mendukung bahwa biji fenugreek berpotensi mengatur lemak konsumsi pada manusia. Apakah diosgenin sendiri dapat meniru hasil ini dengan cukup baik dosis pada subyek manusia perlu ditangani.

Ada beberapa laporan yang menunjukkan bahwa sumber makanan kaya diosgenin seperti dan umbi ubi berkontribusi terhadap efek anti-diabetes dalam model eksperimental (Basch et al., 2003; Omoruyi, 2008). Bukti dari uji klinis manusia dengan jelas menunjukkan bahwa diosgenin menurunkan glukosa darah dan parameter metabolisme lainnya yang mengarah ke pengobatan diabetes (Basch et al., 2003.) Diosgenin secara signifikan menurunkan glukosa plasma pada streptozotocin-induced tikus diabetes dibandingkan dengan kontrol diabetes menunjukkan sifat anti-diabetesnya (McAnuff et al., 2005). Hasil ini semakin diperkuat oleh fakta bahwa beberapa hati enzim pembatas laju yang umumnya terlibat dalam metabolisme glukosa yang diubah pada keadaan diabetes dinormalisasi dengan pengobatan dengan diosgenin (McAnuff et al., 2005). Sementara ada cukup banyak bukti

(termasuk uji klinis) yang menunjukkan bahwa biji fenugreek dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk mengobati diabetes dan komplikasi terkait, lebih banyak studi eksperimental dijamin untuk mengatasi jika diosgenin dapat digunakan secara efektif dalam pengendalian diabetes dan untuk memahami mekanisme tindakan.

Diosgenin telah terbukti melemahkan proses inflamasi pada model hewan yang relevan. Misalnya, diosgenin yang bergantung pada dosis melemahkan peradangan usus sub-akut dan sekresi empedu yang dinormalisasi pada peradangan usus yang diinduksi indometasin pada tikus. Peran inflamasi kronis pada karsinogenesis sangat penting (Dinarello, 2006); demikian penelitian Yamada et al. (1997) mendemonstrasikan kemampuan diosgenin untuk secara efektif mengobati peradangan dapat diekstrapolasi ke tindakan kemopreventif prospektifnya terhadap kanker. Baru-baru ini, kemanjuran diosgenin terhadap OMA/dekstran natrium sulfat (DSS)-karsinogenesis usus besar terkait peradangan yang diinduksi pada tikus ICR dilaporkan (Miyoshi N dkk., 2011). Diosgenin pada dosis 20, 100 dan 500 mg/kg (berat/berat) dalam makanan dikurang Ulkus yang diinduksi AOM/DSS menjadi 53%, 46% dan 40%, masing-masing dibandingkan dengan kontrol (Miyoshi dkk, 2011). Sementara diosgenin tidak mengubah kejadian tumor usus besar (adenoma+ adenokarsinoma), itu mengurangi multiplisitas tumor secara signifikan pada ketiga pengujian dosis (Miyoshi N et al., 2011).

Karsinogenesis usus besar terkait peradangan yang diinduksi secara eksperimental sebagian dimediasi oleh perubahan metabolisme lipid (pengurangan kadar trigliserida serum dengan lipoprotein lipase), dan modulasi gen yang terkait dengan peradangan dan multiple jalur sinyal (Miyoshi N et al., 2011). Berkenaan dengan kanker

payudara, efek diosgenin pada pertumbuhan ektopik payudara manusia kanker MCF-7 dan MDA 231 tumor xenografts dipelajari pada tikus telanjang (Srinivasan et al., 2009). Dilaporkan bahwa diosgenin (10 mg/kg berat badan diberikan secara intra-tumor) secara signifikan menghambat pertumbuhan xenograft tumor dari MCF-7 dan MDA 231 dibandingkan dengan kontrol yang dirawat dengan kendaraan, tanpa toksisitas pada organ vital mana pun di tikus percobaan (Srinivasan et al., 2009). Untuk menguji sifat anti-penuaan diosgenin di kaitannya dengan hormonal-efek in vivo, Tada et al. (2009) menilai efek kaya diosgenin *Dioscorea* Sp. ekstrak umbi ubi pada pertumbuhan ektopik payudara manusia yang bergantung pada estradiol kanker (MCF-7) pada tikus telanjang ovariectomized selama 12 minggu. Diosgenin yang mengandung ekstrak terbukti menekan ukuran tumor dibandingkan dengan kontrol palsu (Tada et al., 2009).

Noor Aini Habibah
Ari Yuniastuti

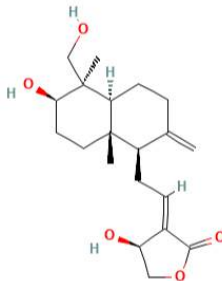


BAB III

PRODUKSI SENYAWA BIOAKTIF MELALUI KULTUR IN VITRO DI INDONESIA

A. Andrografolid dari kultur kalus dan kultur suspensi sel sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Andrografolid merupakan diterpenoid yang dihasilkan oleh tumbuhan sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Gambar 4.1). Andrografolid mempunyai aplikasi terapeutik yang luas antara lain untuk anti inflamasi dan anti platelet dan mempunyai potensi antineoplastik. Pengaruh anti inflamasi berkaitan dengan penghambatan produksi nitric oxide (NO) oleh makrofag. Agen ini mengaktifkan jalur NO/cyclic GMP dan menghambat jalur signaling phospholipase C gamma 2 (PLC gamma2)/protein kinase C (PKC) dan PI3K/AKT-MAPK dalam platelet aktif untuk menghambat agregasi platelet. Sebagai tambahan, andrografolid dapat mendorong aktivitas anti-kanker melalui induksi penangkapan siklus sel pada fase G0 / G1 dan stimulasi proliferasi limfosit dan aktivasi. Proses ini dapat mengakibatkan penurunan proliferasi dan peningkatan imunotoksikitas terhadap sel tumor.



Gambar 3.1 Struktur Andrografolid (Pubchem, 2021)

Perlakuan menggunakan andrografolid dan tanaman *A. paniculata* setelah infeksi pada sel Calu-3 yang terinfeksi SARS-CoV-2 secara signifikan menghambat produksi viron yang infeksius. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *A. paniculata* dan andrografolid dapat dikembangkan sebagai terapi tunggal atau kombinasi dengan obat lain untuk melawan infeksi SARS-CoV-2 (Sa-Ngiamsumtorn, *et al.*, 2021).

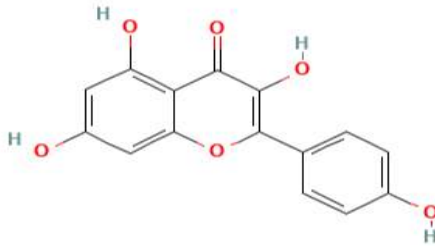
Penggunaan kultur *in vitro* dalam produksi metabolit sekunder mempunyai banyak keuntungan. Produksi metabolit sekunder secara *in vitro* dapat digunakan untuk menghasilkan senyawa yang bernilai tinggi (paclitaxel, shikonin, atropin, dll.) dari tanaman langka dan / atau terancam. Selain itu produksi secara *in vitro* juga memudahkan proses produksi dapat diatur dengan baik dengan manipulasi kondisi kultur. Aplikasi rekayasa genetik dapat dilakukan dengan efisien menggunakan kultur *in vitro* (Singh & Sharma, 2020). Alasan lain produksi metabolit sekunder menggunakan kultur *in vitro* adalah adanya beberapa senyawa yang strukturnya kompleks sehingga sulit dilakukannya secara sintetik, tingginya harga senyawa metabolit sekunder tersebut dan juga langkanya tanaman yang mensintesis senyawa tersebut atau rendahnya kadar senyawa tersebut dalam tanaman.

Produksi metabolit sekunder secara *in vitro* dapat dilakukan menggunakan kultur kalus atau kultur suspensi sel. Induksi kalus pada sambiloto dapat dilakukan menggunakan eksplan berupa kotiledon yang ditanam pada medium MS dengan perlakuan *naphthalene acetic acid* (NAA) 0,1 ppm dan 0,2 ppm dengan kombinasi kinetin 0,5 ppm dan 1 ppm. Kalus yang terbentuk mempunyai morfologi kompak dengan berbagai bentuk dan variasi warna (Krestiani & Rukmi, 2013). Kalus juga dapat dihasilkan dari daun yang ditanam pada medium dengan

tambahan (*2,4-dichlorophenoxy acetic acid*) 2,4-D dan kinetin dengan berbagai tingkatan konsentrasi. Perlakuan dengan konsentrasi kinetin 0,1 mg/l dan asam 2,4-D 0 mg/l merupakan kombinasi perlakuan yang menghasilkan kalus paling besar (Habibah & Fitrianti, 2004). Kalus dengan struktur meremah dapat digunakan dalam induksi kultur suspensi sel. Kultur suspensi sel sambiloto dapat diperoleh dengan memasukkan kalus sambiloto ke dalam medium MS dengan penambahan kombinasi ZPT kinetin dan 2,4-D. Kultur sel sambiloto dapat tumbuh dengan baik pada medium MS dengan tambahan 0,5 ppm kinetin dan 2,4-D 5 ppm. Hasil analisis *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dari kultur sel sambiloto menunjukkan bahwa kultur sel sambiloto dapat menghasilkan andrografolid (Habibah, 2006).

B. Kaempferol dari Kultur suspensi sel Rejasa (*Elaocarpus grandiflorus*)

Kaempferol adalah tetrahydroxyflavone yang mempunyai empat gugus hidroksi terletak pada posisi 3, 5, 7 dan 4' (Gambar 4.2). Kaempferol merupakan antioksidan yang mengurangi stres oksidatif, sehingga saat ini sedang dipertimbangkan sebagai pengobatan kanker. Senyawa ini memiliki peran sebagai agen antibakteri, metabolit tanaman, metabolit xenobiotik manusia, metabolit urin manusia dan metabolit serum darah manusia. Kaempferol merupakan anggota flavonol, 7-hydroxyflavonol dan tetrahydroxyflavone. Flavonoid kaempferol dikenal dapat menekan pertumbuhan sejumlah keganasan manusia. Kaempferol menginduksi apoptosis dalam sel glioma dengan meningkatkan stres oksidatif intraseluler (Pubchem, 2021).



Gambar 3.2 Struktur Kaempferol (Pubchem, 2021)

Tanaman rejasia mengandung senyawa bioaktif yang mempunyai aktivitas antidiabetic. Kandungan senyawa bioaktif dari *Elaeocarpus* berupa alkaloid, flavonoid, glikosida, tannin, triterpen, asam lemak, dan senyawa sitotoksik (Hardainiyani *et al.*, 2015). Kaempferol merupakan senyawa yang termasuk dalam kelompok flavonoid.

Produksi flavonoid dapat dihasilkan oleh kultur kalus dan suspensi sel rejasia. Kalus rejasia dapat diinduksi pada medium MS maupun *Woody Plant Medium* (WPM). Induksi kalus pada medium MS dapat dilakukan dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) picloram atau 2,4-D. Eksplan tangkai daun yang ditanam pada medium MS dengan penambahan 3,5 ppm 2,4-D menghasilkan persentase berkalus yang paling rendah yaitu 27%. Eksplan tangkai daun yang tumbuh pada medium MS dengan penambahan picloram 3,5 ppm menunjukkan persentase pertumbuhan kalus tertinggi (93%). Eksplan yang ditanam pada MS dilengkapi dengan 3,5 picloram menunjukkan waktu induksi kalus terbaik yaitu 29,9 hari. Kalus yang terbentuk sebagian besar coklat, dan dalam beberapa perlakuan menghasilkan kalus hijau (Habibah *et*

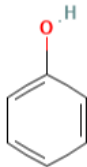
al., 2018). Kondisi tanpa pencahayaan dalam proses induksi kalus ternyata berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus rejasa yang dipelihara pada medium MS dengan penambahan picloram dan 2,4-D. Persentase induksi kalus paling rendah terdapat pada eksplan dengan penambahan zat pengatur tumbuh picloram dengan konsentrasi 7,5 ppm (14%). Eksplan yang dipelihara pada medium dengan penambahan picloram konsentrasi 5 ppm menghasilkan persentase induksi kalus tertinggi. Waktu induksi kalus berada dalam rentang 10-22 hari. Eksplan dengan penambahan zat pengatur tumbuh picloram konsentrasi 5 ppm memiliki rerata waktu induksi kalus paling baik yaitu 12 hari. Kalus yang terbentuk dominan berwarna kekuningan dengan jenis meremah. Berdasarkan hasil penelitian, medium yang paling baik untuk induksi kalus dalam kondisi gelap adalah medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh picloram konsentrasi 5 ppm (Wijayati., 2019). Eksplan tangkai daun yang diinduksi pada medium WPM dengan penambahan picloram dan 2,4-D dapat menghasilkan kalus dengan pertumbuhan bervariasi. Kalus pada medium WPM dengan penambahan picloram 3,5 ppm merupakan konsentrasi ZPT yang paling optimal untuk pertumbuhan (berat basah) kalus. Morfologi kalus rejasa yang ditumbuhkan pada WPM dengan penambahan picloram dan 2,4-D menunjukkan tekstur meremah (Musafa *et al.*, 2019). Analisis biokimia membuktikan bahwa kalus yang dipelihara pada media MS dengan penambahan 2,4-D dan picloram dapat menghasilkan flavonoid dan fenolik. Konsentrasi flavonoid dan fenolik yang diproduksi dalam setiap perlakuan bervariasi. Flavonoid dan fenolik total tertinggi diperoleh pada kalus yang tumbuh pada medium MS dengan penambahan picloram 3,5 mg/L (Habibah *et al.*, 2020).

Kultur sel rejasa dapat diperoleh dengan memelihara kalus pada medium WPM cair dengan penambahan

Picloram (3,5, 5 dan 7,5 ppm) dan 2,4-D (1,5, 2,5 dan 3,5 ppm). Induksi kultur sel terbaik diperoleh dalam sel yang dipelihara dalam media WPM dengan penambahan 2,4-D 2,5 ppm. Semua sel di berbagai media perlakuan dapat menghasilkan flavonoid dengan konsentrasi yang bervariasi. Kandungan flavonoid total tertinggi diperoleh pada kultur sel yang dipelihara pada medium WPM dengan penambahan 2,5 ppm 2,4-D yaitu 1,575 mg QE/g berat kering sel (Habibah *et al.*, 2019). Kultur sel yang dipelihara pada medium WPM dengan penambahan Picloram (3,5, 5 dan 7,5 ppm) dan 2,4-D (1,5, 2,5 dan 3,5 ppm) juga dapat menghasilkan fenolik dengan berbagai konsentrasi fenolik total (Anggraito *et al.*, 2019). Hasil analisis menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) flavonoid yang paling dominan dalam kultur sel rejas adalah Kaempferol.

C. Fenol dari kultur suspensi sel Gembili (*Dioscorea esculenta*)

Fenol adalah senyawa hidroksi organik yang terdiri dari benzena yang mengandung substituen hidroksi tunggal (Gambar 4.3). Senyawa ini memiliki peran sebagai desinfektan, dan obat antiseptik. Fenol mempunyai potensi sebagai antioksidan yang mengurangi radikal bebas berdasar pada jumlah grup hidroksi pada struktur molecular.



Gambar 3.3 sturktur fenol (Pubchem, 2021)

Gembili merupakan umbi yang dimanfaatkan sebagai bahan pangan alternatif di Indonesia (Bahlawan *et al.*, 2020). Umbi gembili mempunyai kandungan inulin sehingga berpotensi menjadi makanan fungsional (Nuryana, 2018). Selain itu, umbi gembili mengandung berbagai senyawa bioaktif diantaranya diosgenin, dan dioscorin. Dioscorin dan diosgenin berperan sebagai *immunomodulator* yang dapat mencegah terjadinya penyakit metabolik meliputi diabetes melitus, obesitas, dan hiperkolesterolemia (Prabowo *et al.*, 2014). Umbi dari *Dioscorea spp* juga dilaporkan mengandung senyawa fenolik (Cornago *et al.*, 2011).

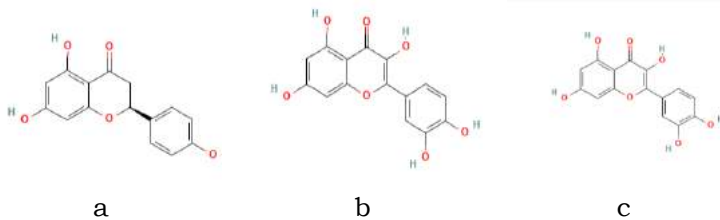
Induksi kalus gembili dapat dilakukan menggunakan eksplan umbi yang ditanam pada medium MS dengan penambahan kombinasi 2,4-D dan kinetin dalam kondisi terang dan gelap. Kombinasi ZPT yang digunakan adalah 2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm, 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 1 ppm, 2,4-D 1 ppm + kinetin 0,5 ppm, 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 0,5 ppm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi 0,5 ppm 2,4-D + 0,5 ppm kinetin dalam kondisi cahaya menunjukkan waktu kalus tercepat. Sementara itu, persentase eksplan dengan kalus tertinggi ditunjukkan dalam semua perlakuan dalam kondisi gelap sebesar 100%. Kalus yang diproduksi dalam kondisi terang umumnya hijau dengan tekstur yang meremah, kalus dalam kondisi gelap umumnya putih dan memiliki tekstur yang meremah (Habibah *et al.*, 2021). Kalus gembili yang dipelihara pada medium MS dengan penambahan 2,4-D 1 ppm + kinetin 1 ppm, 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 1 ppm, 2,4-D 1 ppm + kinetin 0,5 ppm, 2,4-D 0,5 ppm + kinetin 0,5 ppm) baik pada kondisi gelap maupun terang dapat menghasilkan flavonoid, fenol dan mempunyai aktivitas antioksidan dengan konsentrasi yang bervariasi. Kandungan fenol tertinggi diperoleh dari kalus yang tumbuh di medium dengan penambahan 2,4-D 1 ppm + kinetin 0,5 ppm dan

dipelihara dalam kondisi terang (Habibah, 2021). Pada produksi fenolik kondisi terang, 2,4-D yang tinggi menghasilkan produksi paling tinggi. Pada kondisi gelap, sitokinin dengan konsentrasi yang tinggi menghasilkan produksi fenolik tertinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ZPT dan pencahayaan berpengaruh terhadap produksi fenolik pada kalus gembili. Hal ini juga dilaporkan pada kalus *Crataegus azarolus* (Chaa`bani *et al.*, 2015). Enzim yang berperan dalam biosintesis asam fenolik aktivitasnya dipengaruhi oleh cahaya, semakin tinggi intensitas cahaya, enzim akan meningkatkan aktivitasnya.

D. Quercetin, Naringenin dan Rutin dari kultur kalus dan kultur suspensi Kepel (*Stelechocarpus burahol*)

Naringenin, quercetin dan rutin merupakan flavonoid yang berpotensi sebagai obat. Naringenin mempunyai aktivitas antioksidan, berpotensi sebagai obat *Alzheimer's disease*, (Ferreyra *et al.*, 2012, Ghofrani *et al.*, 2015). Quercetin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, anti kanker, aktivitas hepatoprotektif, anti inflamasi, dan juga anti virus (Kumar & Pandey, 2013). Rutin merupakan flavonoid yang berpotensi sebagai obat karena memiliki kemampuan sebagai antioksidan, aktivitas hepatoprotektif, anti jamur, anti inflamasi, mempunyai efek anti kanker, menghambat leukimia dan menguatkan pembuluh darah (Gupta *et al.*, 2014, Kumar & Pandey, 2013). Naringenin merupakan flavonoid awal yang terbentuk pada jalur biosintesis flavonoid. Naringenin menjadi substrat untuk produk flavonoid yang lain. Pada jalur selanjutnya terbentuk dihidrokaempferol yang kemudian dengan bantuan enzim *flavonol synthase* diubah menjadi quercetin (Liu *et al.*, 2013). Flavonoid rutin (quercetin 3-O rutinoside), merupakan flavonol glikosida yang terdiri dari flavonol quercetin dan disakarida rutinose.

Rutin merupakan produk lanjut dari quercetin (Gupta *et al.* 2014). Struktur kimia dari naringenin, quercetin dan rutin tersaji pada Gambar 4.4.



Gambar 3.4 a. Naringenin, b. Quercetin, c. Rutin (Pubchem, 2021)

Tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook. f. & Thomson) secara alami dapat ditemui di Indonesia terutama di Jawa. Daun kepel mempunyai kandungan senyawa flavonoid yang mempunyai kemampuan *antihyperuricemic* sehingga berpotensi dikembangkan sebagai obat asam urat. Hasil uji secara *in vivo* baik ekstrak etanol daun kepel maupun ekstrak heksan memiliki potensi sebagai penurun kadar asam urat darah. Allopurinol efektif pada dosis 36 mg/kg b.w., ekstrak ethanol efektif pada dosis 200 mg/kg b.w., dan ekstrak heksan efektif pada dosis 100 mg/kg b.w. Allopurinol merupakan obat penurun asam urat yang dapat menurunkan konsentrasi asam urat darah secara drastis dalam beberapa hari atau minggu. Allopurinol berperan sebagai *xanthine oxidase inhibitor* yang menghambat pembentukan asam urat. Flavonoid pada daun kepel memiliki aktivitas *xanthine oxidase inhibitor* sehingga memiliki efek yang sama dalam mengatasi *hyperuricemia* (Purwantiningsih *et al.*, 2010).

Produksi naringenin, quercetin dan rutin secara *in vitro* dapat dilakukan menggunakan kultur Klaus dan kultur suspensi sel kepel. Induksi kalus kepel dapat dihasilkan

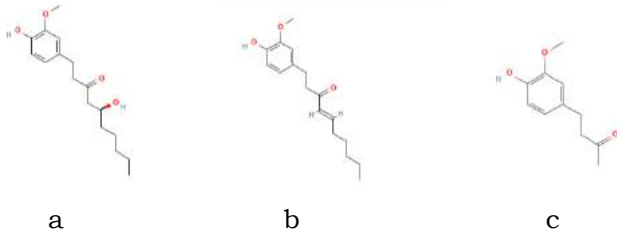
dari eksplan mesocarp dan biji muda. Eksplan mesocarp dikultur pada media MS dengan zat pengatur tumbuh picloram (5, 7,5 dan 10 mg/L) dan 2, 4-D (10, 15 dan 20 mg/L) dalam kondisi gelap. Induksi pembentukan kalus dimulai pada hari ke-20,29 hingga ke-29,86. Medium yang dilengkapi dengan ZPT picloram dan kondisi kultur gelap terbukti menjadi kondisi terbaik untuk induksi optimum kalus dari mesocarp eksplan *S. burahol*. Kalus yang tumbuh pada medium dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram menghasilkan flavonoid tertinggi. Produksi maksimum metabolit sekunder diperoleh dari kalus berusia 8 minggu (Habibah *et al.*, 2016). Induksi kalus juga dapat dihasilkan dari eksplan biji muda yang dikultur pada media MS dengan menambahkan berbagai jenis dan konsentrasi picloram dan 2,4-D dalam kondisi terang dan gelap. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembentukan kalus dimulai pada hari ke-18,50 hingga ke-55. Kondisi terbaik untuk induksi kalus optimal ditemukan pada media MS, yang dilengkapi dengan 7,5 mg/L picloram dan dipelihara dalam kondisi gelap. Induksi kalus bervariasi dari 60% hingga 100%. Kalus yang ditanam pada media dengan penambahan 10 mg/L 2,4-D menghasilkan flavonoid tertinggi (Habibah *et al.*, 2017).

Induksi kultur suspensi sel dapat diperoleh dengan memelihara kalus pada medium MS dengan penambahan Pikloram. Eksplan yang digunakan adalah mesocarp ditanam di medium MS dilengkapi dengan 7,5 mg/L picloram untuk induksi kalus. Kalus yang dihasilkan merupakan kalus yang meremah yang merupakan bahan yang sangat baik untuk produksi kultur sel. Kalus kemudian dipelihara pada medium MS cair dengan penambahan 7,5 mg/L picloram. Pertumbuhan suspensi sel *S. burahol* sangat lambat. Fase lag dari kultur suspensi sel *S. burahol* terjadi pada umur kultur 0-6 hari setelah penanaman, diikuti dengan fase log pada umur 6-30 hari

dan mencapai fase stasioner pada umur kultur 30-36 hari. Biomassa tertinggi diperoleh pada umur 30 hari yaitu pada fase stasioner. Produksi flavonoid pada kultur suspensi sel atau kalus *S. burahol* lebih rendah daripada produksi flavonoid pada mesokarp. Produksi flavonoid tidak sejalan dengan pertumbuhan sel dan produksi maksimum terjadi pada hari ke-15 yaitu pada fase log (Habibah *et al.*, 2017). Hasil uji HPLC menunjukkan bahwa kalus dapat menghasilkan naringenin tetapi tidak terdeteksi adanya quercetin maupun rutin. Pada kultur suspensi sel kepel, naringenin, quercetin dan rutin terdeteksi dengan konsentrasi rutin paling tinggi dibanding flavonoid naringenin maupun quercetin.

E. Gingerol, shogaol, dan zingeron dari kultur kalus Jahe (*Zingiber officinale*)

Gingerol adalah keton beta-hidroksi yang 5-hydroxydecan-3-satu diganti dengan 4-hydroxy-3-methoxyphenyl moiety pada posisi 1. Gingerol dapat menghambat adipogenesis. Senyawa ini terkandung pada jahe segar. Gingerol memiliki peran sebagai agen antineoplastik. Zingerone adalah keton yang 4-phenylbutan-2-satu di mana cincin fenil diganti pada posisi 3 dan 4 oleh gugus metoks dan hidroksi masing-masing. Zingeron merupakan komponen pedas utama dalam jahe. Senyawa ini memiliki peran sebagai antioksidan, agen anti-inflamasi, agen pelindung radiasi, antiemetik, agen penyedap dan wewangian. Struktur kimia gingerol, shogaol dan zingeron tersaji pada Gambar 4.5.



Gambar 3.5 a. Gingerol, b. Shogaol, c. Zingeron (Pubchem, 2021)

Produksi gingerol, shogaol dan Zingeron secara *in vitro* dapat dihasilkan melalui kultur kalus jahe. Kalus dari jahe merah, jahe emprit dan jahe gajah dapat diinduksi menggunakan eksplan rizoma. Medium yang digunakan adalah medium MS dengan penambahan 5 mg/L NAA dan 3,5 mg/L BAP. Eksplan diinkubasi selama 3 bulan. Kuantitas kalus terbesar diperoleh dari varetas jahe gajah. Jahe emprit dan jaeh merah menghasilkan kalus kompak, jahe gajah menghasilkan kalus meremah. Komposisi metaoblit sekunder terbaik diperoleh dari kalus jahe emprit yang mengandung 1,181% gingerol, 0,118% shogaol, dan 0,098% zingeron (Arijanti & Suryaningsih, 2019). Induksi kalus jahe merah selain menggunakan medium MS juga dapat dilakukan pada media Vacin & Went (VW). Kedua medium dapat dikombinasikan dengan sumber gula yang berbeda yaitu glukosa, fruktosa dan sukrosa. Zat pengatur tumbuh yang digunakan adalah 5 mg/L NAA dan 3,5 mg/L BAP. Eksplan yang digunakan adalah rizoma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kalus dengan kualitas terbaik dipeoleh dari eksplan yang ditumbuhkan pada medium MS dengan sumber gula fruktosa. Kalus yang dihasilkan merupakan kalus meremah dan embriogenik. Pada perlakuan lain dihasilkan kalus kompak. Kandungan Gingerol, Shogaol dan Zingeron tertinggi dihasilkan pada eksplan yang ditanam pada medium VW dengan tambahan fruktosa yaitu 0,145% (Prakoewa, *et al.*, 2019).

F. Katarantin dari kultur kalus Tapak Dara (*Catharanthus roseus*)

Katarantin merupakan senyawa organik heteropentasiklik dan monoterpenuoid indol alkaloid yang dihasilkan oleh tumbuhan *Catharanthus roseus* (Gambar 4.6). Katarantin merupakan senyawa anti kanker. Senyawa ini juga melebarkan arteri mesentrik kecil dan menurunkan denyut jantung dan kontraktilitas jantung dengan menghambat *calcium channels* pada sel otot polos vascular dan kardiomiosit (Jadhav, *et al.*, 2013).



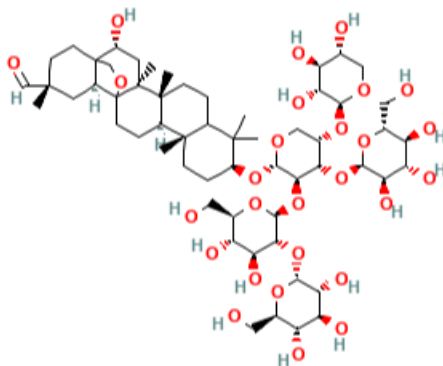
Gambar 3.6 Struktur kimia Katarantin (Pubchem, 2021)

Produksi katarantin dari tapak dara dilakukan dengan menggunakan kultur kalus. Induksi kalus tapak dara dilakukan dengan menggunakan eksplan daun yang ditanam pada medium MS dengan penambahan NAA dengan konsentrasi 0-2,5 mg/L dan kinetin 0,15 mg/L. Semua eksplan menghasilkan kalus dengan pertumbuhan yang bervariasi. Kalus mulai terbentuk pada hari ke-8 setelah penanaman. Proliferasi sel meningkat ketika konsentrasi NAA dinaikkan menjadi 2,0 ppm dan 2,5 ppm yang ditunjukkan dengan meningkatnya massa sel yang

dihasilkan. Pertumbuhan kalus sampai menutupi seluruh permukaan eksplan berlangsung selama kurang lebih enam minggu. Hasil analisis biokimia menunjukkan bahwa kandungan katarantin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi NAA. Perlakuan dengan penambahan NAA 0,5 ppm pada kultur kalus dapat menghasilkan katarantin yaitu sekitar 120 µg/g berat kering, sedangkan dengan penambahan 2,4-D sebanyak 0,5 ppm tidak terdeteksi atau sangat rendah (Pandiangan & Nainggolan, 2006).

G. Saponin dari Kultur Kalus Ginseng Jawa (*Talinum paniculatum*)

Saponin merupakan kelompok besar senyawa yang terkait secara struktural yang mengandung steroid atau triterpenoid aglycone (sapogenin) yang terkait dengan satu atau lebih moieties oligosakarida. Saponin secara luas diklasifikasikan sebagai triterpenoid, steroid, atau glikoalkaloid steroid, tergantung pada struktur aglikon asal. Saponin dapat membentuk kompleks dengan protein dan lipid (misalnya kolesterol) dan memiliki efek hemolitik. Saponin hanya diserap dalam jumlah kecil, dan efek utamanya terbatas pada saluran usus. Berkenaan dengan efek kesehatan, saponin adalah anti-karsinogenik, anti-mikroba, penurunan kolesterol, modulasi kekebalan tubuh, serta anti-inflamasi (Moses *et al.*, 2004).

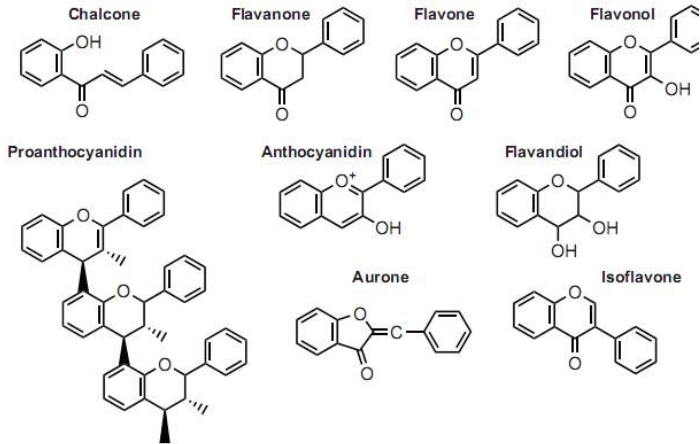


Gambar 3.7 Struktur kimia saponin (Pubchem, 2021)

Kalus dari ginseng jawa dapat dihasilkan pada medium MS dengan penambahan kombinasi 2,4-D (0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L) dan kinetin (0 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 1,5 mg/L). Kalus terbentuk pada eksplan umur 7-10 hari setelah penanaman. Morfologi kalus yang terbentuk awalnya berwarna putih remah (friable), kemudian pada akhir minggu ketujuh kalus mulai berubah warna menjadi coklat tua dan akhirnya kehitaman. Semua perlakuan kombinasi ZPT 2,4-D dan kinetin yang diujikan dapat menghasilkan kalus dengan laju pertumbuhan kalus yang bervariasi. Kalus dengan laju pertumbuhan kalus tertinggi (96,40 mg/hr) diperoleh dari kombinasi ZPT 1,5 mg/L 2,4-D dan 1,5 mg/L kinetin pada umur kalus 5 minggu. Hasil analisis biokimia menunjukkan bahwa kalus ginseng jawa mengandung saponin. Kombinasi ZPT 1,5 mg/L 2,4-D dan 1,5 mg/L kinetin merupakan kombinasi yang optimum untuk meningkatkan kadar saponin kalus *T. paniculatum* secara *in vitro* (Wardani *et al.*, 2004).

H. Flavonoid dari kultur kalus berbagai tanaman di Indonesia

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang mempunyai kemampuan bioaktif yang diproduksi oleh tumbuhan dan ditemukan pada berbagai bagian tumbuhan. Kemampuan bioaktif flavonoid sangat bervariasi antara lain sebagai antioksidan, anti kanker, anti asam urat, anti hipertensi dan anti bakteri. Flavonoid merupakan kelompok yang sangat besar yang terdiri atas beberapa kelompok utama (Gambar 3.8).



Gambar 3.8 Struktur berbagai kelas utama flavonoid (Ferreyra *et al.*, 2012)

Produksi flavonoid dari kultur *in vitro* banyak dilaporkan dari berbagai tanaman. Flavonoid dilaporkan dapat diproduksi pada kultur kalus dan kultur suspensi kepel, rejasa, gambili, daun dewa, cabe jawa, binahong, sarang semut dan krisan (Habibah *et al.*, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, Sugiyarto & Kuswandi, 2014b, Faramayuda *et al.*, 2016, purwaningsih *et al.*, 2016, Sari *et al.*, 2018, dan Setiawati *et al.*, 2020).

Kalus cabe jawa dilaporkan menghasilkan flavonoid. Induksi kalus cabe jawa dapat diperoleh pada medium MS dengan penambahan 2,4 dichlorophenoxyacetic asam (2,4-D), 6-benzilaminopurin (BAP) dan kinetin. Kombinasi ZPT yang digunakan adalah 2,4-D dan BAP dengan konsentrasi 0 dan 0,5 mg/L dan kombinasi 2,4 dan Kinetin dengan konsentrasi 0 dan 0,5 mg/L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan kombinasi ZPT 2,4-D 0,5 mg/L + BAP 0,5 mg/L menghasilkan pertumbuhan kalus terbaik. Metabolit sekunder dari kalus cabe jawa dianalisis dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak n-heksan : etil asetat (3:7) dan toluen : etil asetat (1:1). Hasil analisis menunjukkan bahwa kalus cabe jawa mengandung senyawa steroid, triterpenoid dan flavonoid (Faramayuda *et al.*, 2016).

Produksi flavonoid pada tanaman binahong secara *in vitro* dapat dilakukan menggunakan kultur kalus. Kalus binahong dapat diinduksi dengan menggunakan eksplan daun. Medium yang digunakan adalah medium MS dengan penambahan ZPT 2,4 D (1-3 mg/L), 0,5 mg/L IBA+0,5 mg/L BAP; 0,5 mg/L IBA+1,0 mg/L BAP ; 1,0 mg/L IBA+0,5 mg/L BAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua perlakuan dapat menginduksi terbentuknya kalus binahong. Penambahan 2,4-D (1 dan 2 mg/L) mampu menginduksi kalus daun binahong pada hari ke-3 dan ke-5 setelah tanam (hst). Persentase terbentuknya kalus tertinggi terdapat pada eksplan yang ditanam pada medium dengan penambahan media 2,4-D 1 mg/L dan kombinasi 0,5 mg/L IBA + 0,5 mg/L BAP yaitu 100% (Sugiyarto & Kuswandi, 2014a). Hasil analisis biokimia menunjukkan bahwa kalus binahong mengandung flavonoid. Flavonoid Total dari kalus daun binahong yang dipelihara pada medium MS dengan penambahan 2,4-D 2 mg/L adalah 0,0019%, kalus tekstur remah hasil penanaman daun pada medium dengan penambahan 2,4-D 3 mg/L menghasilkan

flavonoid total 0,0017%, dan sampel daun sekitar 0,015%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar flavonoid total sampel daun masih relatif lebih tinggi dibandingkan dari kalus (Sugiyarto & Kuswandi, 2014b).

Tanaman sarang semut dapat digunakan untuk produksi flavonoid dengan menggunakan kultur kalus. Induksi kalus dari tanaman sarang semut dapat dilakukan dengan menggunakan eksplan kotiledon, batang, umbi dan akar pada medium MS dengan penambahan kombinasi ZPT 2,4-D (0,5; 1; 1,5, dan 2 mg/L) dan kinetin (2 mg/L). Kultur diinkubasi pada ruang kultur dengan intensitas cahaya $\pm 1000-2000$ lux dengan temperature 20°C-25°C selama 10 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua eksplan dapat menghasilkan kalus pada semua medium perlakuan. Kalus terbaik diperoleh dari eksplan kotiledon yang ditanam pada medium MS dengan penambahan 2 mg/L 2,4-D dan 2 mg/L kinetin. Kalus terbaik digunakan untuk perlakuan penambahan sukrosa (30, 60, 90, and 120 g). Kalus dengan perlakuan 30 g sukrosa menghasilkan metabolit sekunder terbaik yang mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, dan steroid (Sari *et al.*, 2018).

Krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) mengandung banyak metabolit sekunder antara lain flavonoid yang mempunyai potensi sebagai obat. Produksi flavonoid dari krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) secara *in vitro* dapat dilakukan menggunakan kalus dan plantlet. Kalus dapat diinduksi dari daun dan batang pada medium MS dengan penambahan 3 mg/L 2,4-D + 2 mg/L kinetin dan 4 mg/L 2,4-D. Induksi kultur tunas diperoleh dari eksplan nodus tunggal dari plantlet yang ditanam pada medium MS dengan penambahan 1 mg/L BAP. Kandungan metabolit sekunder pada kalus dari eksplan daun adalah alkohol, asam asetat dan organosilicon. Kalus dari eksplan batang mengandung aldehides, ester, alkana, dan asam karboksilat. Beberapa senyawa yang terdeteksi precursor

dari alkaloid, feenolik, dan flavonoid (Setiawati *et al.*, 2020). Pada spesies *Chrysanthemum cinerariifolium*, daun dapat diinduksi menjadi kalus pada medium MS dengan penambahan 2,4-D, dan kinetin. Kalus terbaik dapat dihasilkan pada medium MS dengan penambahan 4 mg/L 2,4-D and 0 mg/L kinetin. Hasil analisis biokimia menunjukkan bahwa kalus mengandung flavonoid quercetin (Purwianingsih *et al.*, 2016). Tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L.) telah dikenal dalam pengobatan secara tradisional di Indonesia sejak lama. Produksi flavonoid brotowali dapat dilakukan menggunakan medium MS dengan 10% air kelapa dan 2,4-D dengan konsentrasi 2,0 mg/L, 2,5 mg/L, 3,0 mg/L, 3,5 mg/L, dan 4,0 mg/L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa air kelapa 10% + 3,0 mg/L 2,4-D merupakan medium terbaik untuk induksi kalus brotowali. Kalus terdeteksi menghasilkan flavonoid (sukmawati *et al.*, 2018).

Noor Aini Habibah
Ari Yuniastuti



BAB IV

PENINGKATAN PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER DENGAN KULTUR IN VITRO DI INDONESIA

A. Elisitasi pada kultur sel sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Berbagai permasalahan terjadi pada kultur sel antara lain produksi metabolit sekunder yang rendah, dan kesulitan purifikasi metabolit sekunder dari suspensi sel, disamping itu sel tidak dapat digunakan lagi. Produksi metabolit sekunder dapat ditingkatkan dengan berbagai cara antara lain immobilisasi sel (Han *et al.*, 2012), kultur *hairy root* (Kochan *et al.*, 2012), elisitasi (Veerashree *et al.*, 2012), penambahan prekursor (Perassolo *et al.*, 2011, Nunez-Paleniuss), dan kombinasi elisitasi dan penambahan prekursor (Qu *et al.*, 2011).

Elisitasi merupakan metode yang mengacu pada fenomena alam dalam mekanisme pertahanan inang terhadap patogennya. Interaksi antara patogen dengan tumbuhan inang yang menginduksi pembentukan fitoaleksin pada tumbuhan merupakan respon terhadap serangan mikroba patogen. Senyawa yang berperan dalam proses elisitasi disebut elisitor. Elisitor mengaktifkan gen dalam tumbuhan yang mengkode enzim yang diperlukan untuk sintesis fitoaleksin. Elisitor selain menginduksi pembentukan fitoaleksin juga meningkatkan berbagai metabolit sekunder dan enzim lain. Pada kultur kalus dan kultur sel penambahan elisitor juga dapat menginduksi senyawa metabolit sekunder yang bukan fitoaleksin. Elisitor dapat berupa biotik maupun abiotik. Setiap tipe elisitor berdasarkan karakteristiknya masing-masing dapat menginduksi respon spesifik yang tergantung pada interaksi kultur tumbuhan dan elisitor. Elisitor biotik

berasal dari makhluk hidup, dari patogen atau dari tumbuhan itu sendiri. Elisitor abiotik berupa faktor fisik atau senyawa kimia. Salah satu pengaruh yang ditimbulkan oleh elisitor adalah adanya depolarisasi sel tumbuhan yang berarti aktivasi saluran ion endogen oleh elisitor. Elisitor juga dapat membentuk pori sehingga memungkinkan ion menembus membran tanpa perlu terikat pada reseptor dan aktivasi saluran ion. Elisitasi dipengaruhi oleh spesifikasi elisitor, konsentrasi elisitor yang ditambahkan dan kondisi kultur. Konsentrasi elisitor yang ditambahkan ke dalam kultur suspensi sel sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan kultur sel dan sintesis metabolit sekunder dalam kultur suspensi sel tersebut. Jumlah elisitor yang ditambahkan ke dalam kultur sel biasanya sangat kecil dan ditambahkan pada tahapan pertumbuhan kultur tertentu.

Asam jasmonik merupakan salah satu elisitor abiotik yang banyak digunakan. Asam jasmonik adalah senyawa alami yang disintesis oleh tumbuhan sebagai respon terhadap adanya serangan patogen. Asam jasmonik berperan dalam menginisiasi transkripsi gen-gen yang terlibat dalam mekanisme pertahanan pada tumbuhan. Medium induksi kalus yang digunakan adalah MS padat. Zat pengatur tumbuh yang digunakan 2,4-D dan kinetin. Konsentrasi 2,4-D dan kinetin yang digunakan mengacu pada penelitian Habibah dan Fitrianti (2004). Medium kultur suspensi sel yang digunakan adalah medium Murashige & Skoog (1962) yang berfase cair. Zat pengatur tumbuh yang digunakan 2,4-D dan kinetin. Konsentrasi 2,4-D yang digunakan 0, 1 dan 5 ppm. Kinetin yang digunakan 0; 0,25; 0,5 dan 1 ppm. Hasil uji kualitatif andrografolid menunjukkan bahwa semua sampel yang diujikan mengandung andrografolid meskipun dengan kadar yang bervariasi. Ini berarti bahwa semua kultur suspensi sel baik dengan ataupun tanpa penambahan

asam jasmonik dapat menghasilkan senyawa bioaktif andrografolid. Kadar andrografolid yang bervariasi dipengaruhi oleh adanya penambahan asam jasmonik karena hanya variabel tersebut yang berbeda diantara semua perlakuan. Hasil uji andrografolid menunjukkan bahwa penambahan asam jasmonik meningkatkan sintesis senyawa bioaktif andrografolid. Hasil uji andrografolid juga menunjukkan bahwa penambahan asam jasmonik sampai konsentrasi 10 μM meningkatkan kadar andrografolid (Habibah 2009).

Pada kultur suspensi sel *Citrus hystrix* methyl jasmonate dilaporkan menginduksi produksi metabolit sekunder. Kultur suspensi tanpa metal jasmonat hanya mengandung senyawa asam lemak. Senyawa bioaktif yang dihasilkan pada kultur suspensi sel setelah lisitasi menggunakan metal jasmonat adalah *germacrene A*, *myrcene*, *alpha-terpineol*, *geranyl acetate*, *trans-caryophyllene*, *delta-guaiene* dan beberapa tipe asal lemak (Yeni et al., 2019). Penggunaan elisitasi juga dilakukan pada kultur kalus *C. asiatica* untuk meningkatkan produksi asiatikosida. Kultur kalus diinduksi pada MS dengan penambahan 1,0 mg/L indole-3-acetic acid (IAA) dan 10 mg/L 6-benzylaminopurin (BAP). Elisitasi dilakukan menggunakan pektin, methyl jasmonat, dan ion Cu^{2+} . Peningkatan produksi asiatikosida pada kultur kalus *C. asiatica* oleh pektin mencapai 31%; methyl jasmonat (50 μM) pada kultur suspensi sel umur 14 hari mencapai 171% dibandingkan eksplan, dan 494% dibandingkan kalus kontrol; ion Cu^{2+} (25 μM) pada hari ke 21 meningkatkan produksi sampai 144% bila dibandingkan dengan eksplan, dan 676% dibandingkan dengan kultur suspensi tanpa perlakuan (Ruslan et al., 2020). Elisitasi menggunakan methyl jasmonat dan asam salisilat juga dilaporkan pada kultur akar adventif ginseng jawa (*Talinum paniculatum*) untuk meningkatkan saponin. Akar adventif diinduksi pada

medium MS dengan penambahan 10 μ M IBA (indole-3-butyrlic acid). Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi saponin meningkat 1,5 dan 1,3 kali dengan perlakuan elisitasi 0,2 mM MeJA dan SA selama 15 hari (Faizal & Sari., 2019). Selain metal jasmonat, elisitor abiotic khitosan juga telah digunakan dalam peningkatan produksi senyawa bioaktif pada kultur in vitro. Peningkatan kandungan antraquinon pada kultur kalus *Morinda citrifolia* dengan menggunakan elisitor khitosan telah dilaporkan. Kalsu diinduksi dari daun pada medium MS dengan penambahan 1,75 mg/L dan Kinetin 1,5 mg/L. Konsentrasi khitosan yang ditambahkan 0; 0,5; 1; 1,5; 2 dan 2,5 mg/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan antraquinon tertinggi diperoleh dari kalus dengan penambahan elisitor khitosan dengan konsentrasi 2 mg/ml pada masa panen 4 hari (Permanasari et al., 2015).

Elisitor biotik juga telah banyak digunakan untuk peningkatan produksi metabolit sekunder pada kultur in vitro. Elisitasi menggunakan jamur endofit *Aspergillus sp* dilakukan pada kultur kalus *Artemesia annua* untuk meningkatkan kandungan artemisinin. Kalus dielisitasi menggunakan 4 konsentrasi elisitor yaitu 0, 2, 4, 6 mg/mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa elisitasi jamur endofit *Aspergillus sp* dapat meningkatkan kandungan artemisinin. Konsentrasi elisitor 4 mg/mL menghasilkan kandungan artemisinin tertinggi, mencapai 7,6 times jika dibandingkan dengan kontrol (Yuliani et al., 2018). Elisitasi pada akar adventif juga dilakukan pada *G. procumbens*. Akar adventif dikultivasi pada medium MS cair dengan penambahan 5 mg/L IBA. Elisitor yang digunakan adalah ekstrak *S. cereviceae* extract dan CuSO₄. Elisitasi paling optimal terjadi pada perlakuan ekstrak *S. cereviceae* 0,025% dan 1 mg/L CuSO₄. Perlakuan perlakuan ekstrak *S. cereviceae* 0,025% menghasilkan produksi biomassa dan

kandungan quercetin tertinggi mencapai 1,9 kali kultur kontrol. Elisitasi menggunakan 1 mg/L CuSO₄ meningkatkan kandungan kaempferol hingga 13,3 kali kultur kontrol (Faizah *et al.*, 2018). Produksi solasodin pada kultur kalus *Solanum khasianum* dapat ditingkatkan dengan menggunakan elisitor *Sacharomyces cerevisise*. Kalus dinduksi dari eksplan daun yang ditanam pada medium MS dengan penambahan 2 mg/L 2,4-D dan 1 mg/L kinetin. Kalus dielisitasi menggunakan 0; 0,25; 0,5 and 1% ekstrak yeast. Kandungan solasodin dianalisis menggunakan *High Pressure Liquid chromatography* (HPLC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak yeast 0,25% menghasilkan produksi solasodin tertinggi (0,2500 mg/g.DW) (Arif, 2011).

B. Immobilisasi sel pada kultur suspensi sel Kepel

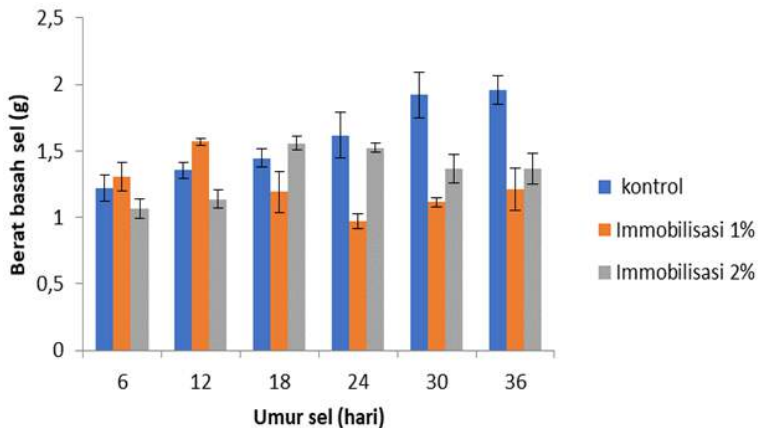
Metode immobilisasi merupakan salah satu metode untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder pada kultur suspensi sel. Immobilisasi menyebabkan sel terhambat pembelahannya, penurunan laju pertumbuhan, dan akumulasi metabolit sekunder. Keuntungan immobilisasi :1) viabilitas sel pada tahap stasioner dapat diperpanjang, sehingga memungkinkan perpanjangan periode waktu pemeliharaan biomassa 2) Jika produk disekresikan maka proses pemurnian produk menjadi lebih sederhana, 3) peningkatan akumulasi produk, 4) minimalisasi viskositas larutan, yang terjadi karena problem pencampuran dan aerasi dalam suspensi sel. Matriks immobilisasi yang digunakan antara lain kalsium alginat (Han *et al.*, 2012), sepon *loofa*, serat sisal, dan goni (Nartop *et al.*, 2013). Penggunaan alginat untuk immobilisasi sel telah dilaporkan pada kultur sel *Linum usitatissimum* (Attoumbre *et al.*, 2006), kultur sel mulbery (Han *et al.*, 2012), dan kultur sel *Capsicum chinense* Jacq.cv. Naga King Chili (Kehie *et al.*, 2013). Immobilisasi

dengan alginat meningkatkan produksi dehydrodiconiferyl alcohol-4- β -d-glucoside hingga 60 mg/g berat sel (tanpa immobilisasi 47,7 mg/g berat sel) (Attoumbre *et al.*, 2006). Han *et al.* (2012) melaporkan sel mulberry yang terimmobilisasi dalam alginat memproduksi dan mensekresikan γ -aminobutyricacid (GABA) dan rutin lebih tinggi dari pada sel bebas. Sel terimmobilisasi yang diinkubasi dalam medium MS cair menghasilkan rutin dan GABA tertinggi dan sekresi terbesar.

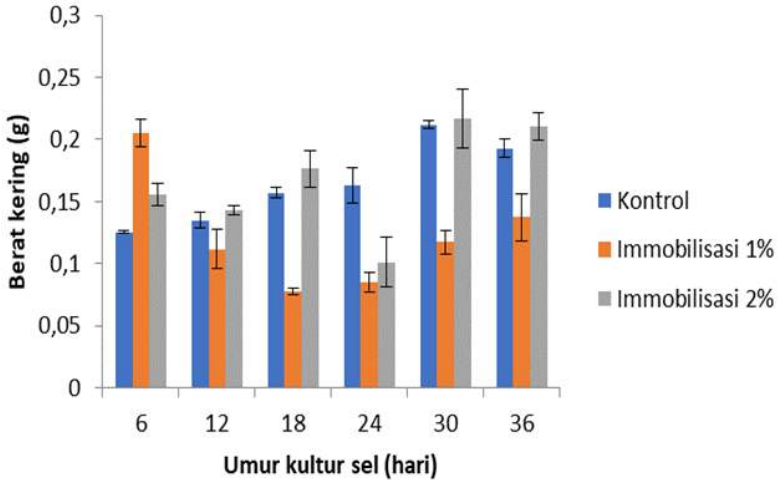
Immobilisasi pada kultur suspensi sel kepel telah dilaporkan (Habibah *et al.*, 2018). Metode yang digunakan dalam immobilisasi kepel adalah metode Attoumbre *et al.* (2006): sel di saring dan 1 g sel dicampur dengan 20 ml larutan alginat steril (1% dan 2% w/v). Campuran diteteskan ke dalam 100 mL larutan CaCl₂ steril (0,1 M). Setelah 30 menit dicuci dengan air deionisasi sebanyak 3 kali dan dimasukkan ke dalam 100 ml medium MS cair. Saat panen, sel dipisahkan dari alginat dengan menambahkan 10 mL larutan EDTA-phosphate (K₂HPO₄) (0,1 dan 0,2 M), secara berturut-turut dan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit pada pH 7,5. Sel yang telah bebas disaring dan berat basahanya diukur. Berat kering diukur setelah di oven selama 48 jam pada suhu 60°C. Sel kering ditimbang dan kandungan flavonoid dianalisis. Pertumbuhan kultur sel ditentukan dari berat basah dan berat kering sel setiap 6 hari sekali selama 36 hari.

Pertumbuhan sel yang mendapat perlakuan immobilisasi dengan menggunakan alginat 1 dan 2%. Secara umum pertumbuhan sel yang diimmobilisasi dengan alginat 2 % menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik daripada yang ditumbuhkan pada alginat 1%. Pertumbuhan tertinggi diperoleh pada kultur yang diimmobilisasi dengan alginat 2% pada umur 18 hari untuk berat basah, dan 30 hari untuk parameter berat kering

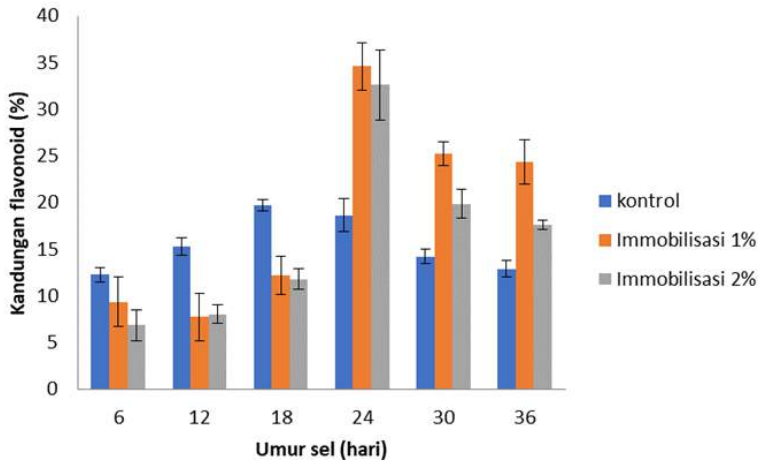
(gambar 4.1 dan 4.2). Pada kultur tanpa perlakuan, pertumbuhan sel tertinggi tercapai pada umur sel 33 hari. Kandungan flavonoid tertinggi diperoleh pada kultur umur 24 hari baik pada kultur yang diimmobilisasi 1% maupun 2% (Gambar 4.3). Kandungan flavonoid tertinggi pada kultur tanpa perlakuan diperoleh pada kultur umur 12 hari.



Gambar 4.1 Berat basah sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %



Gambar 4.2 Berat kering sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %



Gambar 4.3 Kandungan flavonoid sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat 1% dan 2 %

Immobilisasi dengan alginat 1% maupun 2% menunjukkan pertumbuhan dan kandungan flavonoid yang berbeda dengan kontrol (Tabel 1). Jika dibandingkan dengan pertumbuhan sel pada kultur tanpa perlakuan immobilisasi, pertumbuhan sel yang mengalami immobilisasi lebih rendah. Pertumbuhan sel kontrol menunjukkan penambahan biomassa mencapai 196% (1,96 g) dari biomassa awal (1,00 g), sedangkan pada sel yang diimmobilisasi hanya mencapai 165%.

Tabel 4.1 Berat basah, berat kering dan kandungan flavonoid sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L Picloram dengan perlakuan immobilisasi alginat pada umur 36 hari

Perlakuan	Berat basah sel (g)	Berat kering sel (g)	Kandungan flavonoid (%)
Kontrol	1,96±0,26 ^a	0,19±0,01 ^a	12,87±0,86 ^b
I 1%	1,21±0,16 ^b	0,14±0,02 ^b	24,36±2,37 ^a
I 2%	1,37±0,11 ^b	0,21±0,01 ^a	17,61±0,47 ^b

Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata ($n=3$ $p \leq 0,05$)

Keterangan : I 1% : immobilisasi alginat 1% , I 2% : immobilisasi alginat 2%

Immobilisasi dengan alginat mengakibatkan pertumbuhan sel yang lebih lambat. Pertumbuhan sel dalam kultur sel terimmobilisasi berkurang, sehingga hasil metabolisme sel atau biosintesis diarahkan ke jalur metabolit sekunder dan peningkatan hasil produk pada proses tersebut. Kondisi stress yang terjadi selama prosedur immobilisasi menghasilkan produksi metabolit dalam jumlah lebih tinggi. Peningkatan kandungan flavonoid juga dihasilkan oleh sel kepel yang diimmobilisasi dengan alginat baik 1% maupun 2%. Immobilisasi dengan alginat 1% meningkatkan kandungan flavonoid hingga 89,27% lebih tinggi dari kandungan flavonoid sel tanpa

perlakuan. Sedangkan immobilisasi 2% meningkatkan kandungan flavonoid 36,83 % lebih tinggi dari kandungan flavonoid sel tanpa perlakuan. Immobilisasi dengan alginat meningkatkan produksi dehydrodiconiferyl alcohol-4- β -d-glucoside hingga 60 mg/g berat sel (tanpa immobilisasi 47,70 mg/g berat sel) pada kultur sel *Linum usitatissimum* (Attoumbre *et al.*, 2006). Han *et al.* (2012) melaporkan sel mulberry yang terimmobilisasi dalam alginat memproduksi dan mensekresikan γ -aminobutyric acid (GABA) dan rutin lebih tinggi dari pada sel bebas.

Sinyal transduksi pada proses terjadinya respon stres antara lain poliamin, kalsium, jasmonate, salisilat, etilen, hormon, ROS, oligosakarida dan polisakarida. Proses immobilisasi melibatkan kalsium yang merupakan sinyal transduksi terjadinya respon stres (Sudha & Ravishankar, 2012). Penambahan konsentrasi kalsium di dalam sitosol dan nukleus akan dideteksi oleh protein pendeteksi Ca^{2+} . Protein ini mampu mengubah informasi yang ada sehingga mengubah fungsi sel. Jalur sinyal diatur oleh hasil proses transkripsi dan ekspresi dari gen target. Reaksi yang muncul membantu tumbuhan untuk tetap bertahan hidup melawan stres. Protein yang berkaitan dengan sinyal Ca antara lain calmodulin (CaM), CaM-binding proteins, Ca²⁺-dependent protein kinases (CDPKs) dan fosfatase. Protein ini dapat memicu respon yang dapat meningkatkan respon fisiologis tertentu. Sinyal dari CaM dapat menginduksi mRNA dan ekspresi gen baik secara langsung maupun terikat pada faktor transkripsi spesifik (Linberg *et al.* 2012). Faktor transkripsi yang disebut *calmodulin-binding transcription activators* (CAMTA) terlibat di dalam ekspresi gen yang diinduksi oleh stres di Arabidopsis, yang dimediasi oleh kalsium.

Sel kepel yang diimmobilisasi pada alginat disajikan pada Gambar 5.4. Pada umur 36 terjadi perubahan warna pada alginat baik pada sel terimmobilisasi alginat 1%

maupun 2%. Terjadi peningkatan kandungan fenolik dari 103,95 mg/g ekstrak pada umur 12 hari menjadi 168,75 mg/g ekstrak pada umur 24 hari. Perhitungan kandungan fenolik berdasarkan senyawa standar asam galat.

Alginate 1%



0 hari

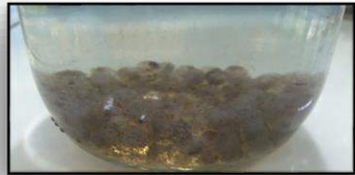


36 hari

Alginate 2%



0 hari



36 hari

Gambar 4.4 Immobilisasi sel kepel pada alginat

Konsentrasi alginat 1% dan 2%. Sel terimmobilisasi umur 36 hari, baik pada konsentrasi alginat 1% maupun 2% menunjukkan adanya perubahan warna dibanding kultur umur 0 hari. Hal ini kemungkinan karena adanya peningkatan akumulasi fenolik.

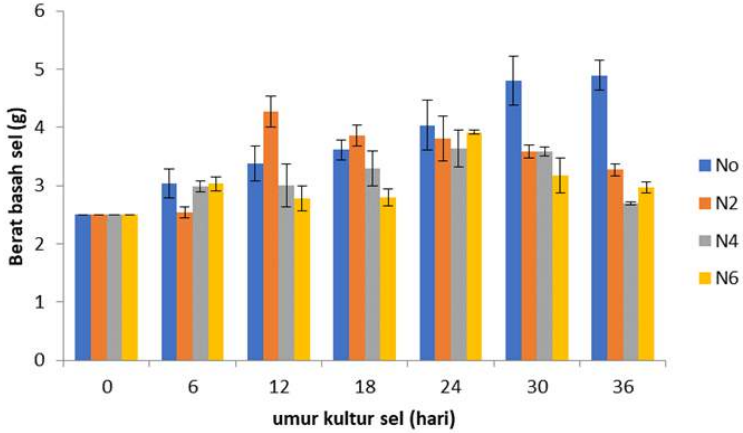
C. Penambahan Prekursor pada kultur suspensi sel kepel

Peningkatan metabolit sekunder juga dapat dilakukan dengan penambahan prekursor. Pada kalus *Hydrocotyle bonariensis* prekursor proline, glutamin, fenilalanin dan naringenin meningkatkan produksi flavonoid (Masoumian *et al.*, 2011). Penambahan 5 mg/L fenilalanin dan elisitor metil jasmonat 50 mg/L pada kultur *Vitis vinifera* terbukti

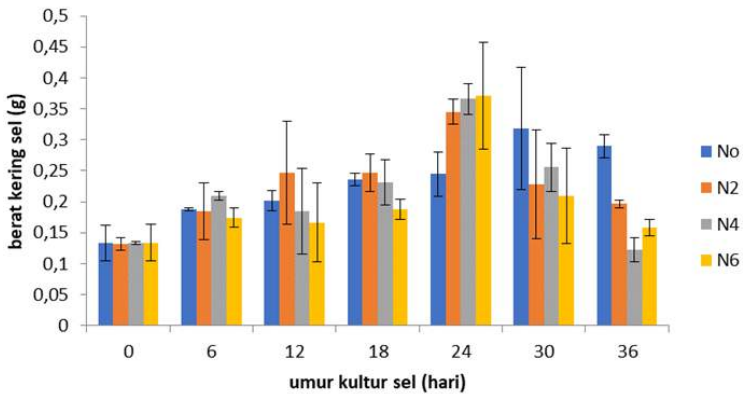
dapat meningkatkan metabolit sekunder antosianin hingga 6,1 kali lipat (Qu *et al.*, 2011). Peningkatan metabolit sekunder antrakuinon hingga 30% juga dilaporkan pada *Rubia tinctorum* setelah adanya penambahan glutamat 5 mM (Perassolo *et al.*, 2011). Tetapi pada kultur *Arnebia euchroma*, penambahan prekursor fenilalanin ternyata tidak dapat meningkatkan produksi pigmen naptakuinon (Sykłowska-Baranek *et al.*, 2012). Penambahan prekursor asam piruvat, dan glisin meningkatkan produksi bacoside-A baik pada tunas maupun kalus *Bacopa monniera*. Pada kalus *Hydrocotyle bonariensis* prekursor proline, glutamin, fenilalanin dan naringenin meningkatkan produksi flavonoid. Produksi flavonoid pada kalus yang mendapatkan perlakuan penambahan 4 mg/L prekursor naringenin meningkat 19,72% lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol (Masoumian *et al.*, 2011).

Penambahan precursor dalam rangka peningkatan produksi flavonoid pada kultur suspensi sel kepel telah dilaporkan (Habibah *et al.*, 2018). Pertumbuhan kultur sel dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin disajikan pada (Gambar 4.5 dan 4.6). Pada perlakuan naringenin 2 ppm, berat basah tertinggi diperoleh pada umur kultur 12 hari, sedangkan pada perlakuan naringenin 4 dan 6 ppm, diperoleh pada umur 24 hari. Berat kering tertinggi baik pada perlakuan naringenin 2, 4 maupun 6 ppm diperoleh pada umur kultur 24 hari.

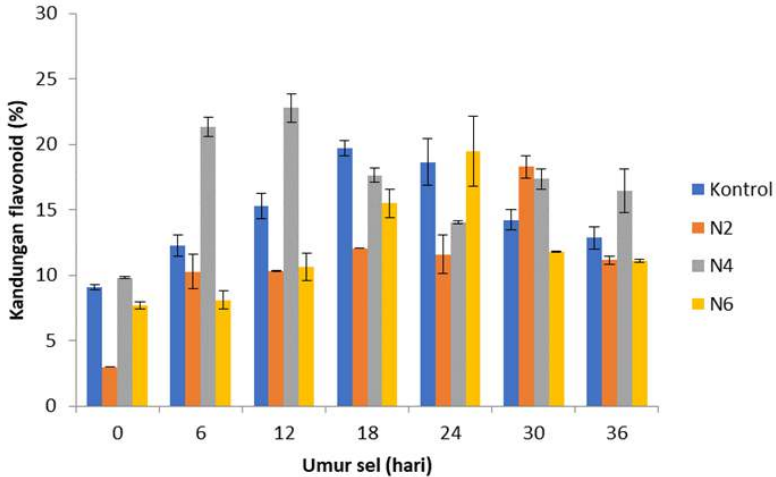
Kandungan flavonoid pada kultur dengan penambahan prekursor naringenin ditampilkan pada Gambar 5.7. Kandungan flavonoid tertinggi pada kultur tanpa perlakuan terjadi pada umur kultur 18 hari. Pada perlakuan naringenin 2 ppm, kandungan flavonoid tertinggi diperoleh pada umur kultur 30 hari, sedangkan pada perlakuan naringenin 4 dan 6 ppm berturut-turut tercapai pada umur 12 hari dan 24 hari.



Gambar 4.5 Berat basah kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5mg/L Picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin. No = tanpa penambahan prekursor; N2 = Penambahan prekursor naringenin 2 ppm; N4 = Penambahan prekursor naringenin 4 ppm; N6 = Penambahan prekursor naringenin 6 ppm



Gambar 4.6 Berat kering kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5mg/L Picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin. No = tanpa penambahan prekursor; N2 = Penambahan prekursor naringenin 2 ppm; N4 = Penambahan prekursor naringenin 4 ppm; N6 = Penambahan prekursor naringenin 6 ppm



Gambar 4.7 Kandungan flavonoid kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin. No = tanpa penambahan prekursor; N2 = Penambahan prekursor naringenin 2 ppm; N4 = Penambahan prekursor naringenin 4 ppm; N6 = Penambahan prekursor naringenin 6 ppm

Berdasarkan berat basah dan kering sel, pertumbuhan sel pada medium dengan penambahan naringenin pada umur 36 hari lebih rendah daripada sel tanpa perlakuan (Tabel 4.6). Berdasarkan berat kering, perlakuan dengan naringenin dengan konsentrasi 2, 4 ataupun 6 ppm meningkatkan berat kering sel lebih tinggi dari sel tanpa perlakuan pada umur kultur 24 hari.

Naringenin 4 ppm meningkatkan produksi flavonoid pada kultur suspensi kepel. Pada konsentrasi naringenin 2 ppm atau 6 ppm, kandungan flavonoid sel tidak berbeda nyata dengan sel kontrol. Penambahan naringenin 6 ppm pada medium menurunkan pertumbuhan sel dan juga produksi flavonoid. Pada kultur kalus *Hydrocotyle bonariensis*, penambahan konsentrasi prolin di atas 4 mg/L menghambat produksi flavonoid (Masoumian *et al.*, 2011).

Tabel 4.2 Pertumbuhan dan kandungan flavonoid kultur suspensi sel kepel pada medium MS dengan penambahan 7,5 mg/L picloram dengan perlakuan penambahan prekursor naringenin pada kultur 36 hari

Perlakuan	Berat basah (g)	Berat kering (g)	Kandungan Flavonoid (%)
No	4,89±0,26 ^a	0,29±0,02 ^a	12,87±0,86 ^b
N2	3,27±0,09 ^b	0,20±0,01 ^b	11,16±0,31 ^c
N4	2,69±0,02 ^c	0,12±0,02 ^d	16,47±0,18 ^a
N6	2,96±0,09 ^c	0,16±0,01 ^c	11,07±0,12 ^c

Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata ($n=3$ $p \leq 0,05$)

Keterangan : No = tanpa penambahan prekursor
N2 = Penambahan prekursor naringenin 2 ppm
N4 = Penambahan prekursor naringenin 4 ppm
N6 = Penambahan prekursor naringenin 6 ppm

Pada kultur sel kepel dengan penambahan 4 mg/L prekursor naringenin meningkatkan produksi flavonoid 27,97% lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol. Pada kalus *Hydrocotyle bonariensis*, penambahan 4 mg/L prekursor naringenin meningkatkan flavonoid 19,72% lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol (Masoumian *et al.*, 2011). Konsentrasi dan waktu yang tepat pemberian prekursor merupakan hal yang sangat penting untuk suksesnya peningkatan metabolit sekunder (Rahimi *et al.*, 2011). Jenis prekursor juga menentukan berhasilnya peningkatan produksi metabolit sekunder (Sykłowska-Baranek *et al.* 2012).

Pada kultur kalus purwaceng, penambahan prekursor asam mevalonate 250 mg/L memberikan hasil produksi stigmasterol tertinggi (0,0356 ppm) dengan masa inkubasi 4 minggu (Roostika *et al.*, 2007). Penambahan precursor berupa fenilalanin dan tirosin dilakukan pada kultur akar adventif untuk peningkatan produksi flavonoid. Akar adventif diinduksi dari eksplan daun *G. procumbens* menggunakan medium MS dengan penambahan indol

butyric acid (IBA). Konsentrasi IBA terbaik untuk induksi akar adventif adalah 5 mg/L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biomassa terbesar diperoleh pada kultur dengan perlakuan 50 g/L sukrosa, 50 mg/L fenilalanin dan 50 mg/L tirosin. Kandungan quercetin dan kaempferol tertinggi diperoleh pada kultur 50 g/L sukrosa, 200 mg/L fenilalanin dan 200 mg/L tirosin (Noviyanti et al., 2017). Penggunaan prekursor fenilalanin juga dilaporkan pada kultur suspensi sel *Moringa oleifera*. Hasil penelitian menunjukkan variasi konsentrasi fenilalanin berpengaruh terhadap peningkatan kandungan total asam fenol pada kultur suspensi sel *M. oleifera*. Total asam fenol tertinggi terdapat pada perlakuan fenilalanin 5 ppm $1,60 \pm 0,37$ ppm (Permanasari et al., 2015).

D. Induksi hairy root dengan menggunakan *A. rhizogenes* pada kultur *C. asiatica*

Peningkatan produksi menggunakan induksi *hairy root* di Indonesia juga telah dilaporkan. Infensi *Agrobacterium rhizogenes* mempunyai kemampuan untuk menginduksi struktur *hairy root* pada tanaman. Strain A. *rhizogenes* ATCC 15834 strain dikultur menggunakan medium YMA selama 2 hari pada 25 °C. Bagian tanaman yaitu daun steril diinkubasi dalam kultur suspensi A. *rhizogenes* selama 40 menit. Eksplan yang terinfeksi kemudian dicuci dengan air steril dan dipindah ke medium awal. Kultur ditumbuhkan pada medium padat mengandung 1,0 mg/L IAA dan 1,0 mg/L BAP dan sukrosa 25 mg/L. Eksplan yang telah terinfeksi kemudian dipindah ke medium yang mengandung cefatoxime 0,2 g/L untuk menghentikan pertumbuhan A. *rhizogenes*. Deteksi asiaticosida dilakukan menggunakan KLT dari ketrak methanol *hairy root* dengan standar asiaticosida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi A. *rhizogenes* dapat menginduksi terbentuknya *hairy root* pada eksplan tanaman *C. asiatica*. Peningkatan

produksi pada kultur hairy root mencapai 166-172% dibandingkan dengan akar yang tidak tertransformasi (Ruslan *et al.*, 2020).

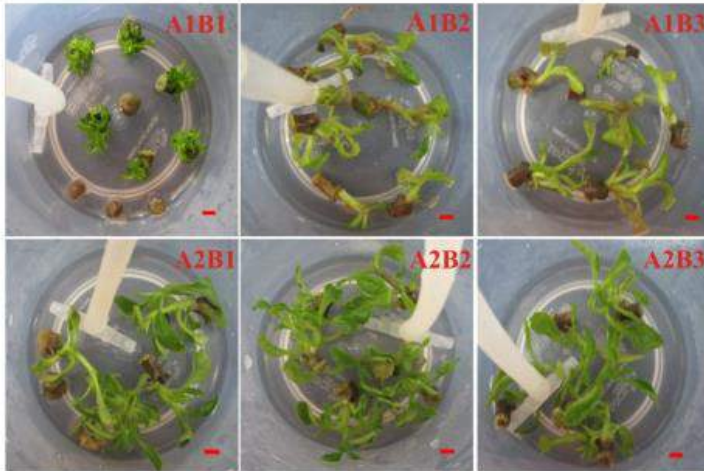
E. Perlakuan stress kekeringan menggunakan PEG pada kultur kalus *Catharanthus roseus*

C. roseus dapat menghasilkan vinblastin, vincristine dan terpenoid yang mempunyai nilai ekonomi tinggi karena merupakan bahan baku obat. Peningkatan produksi vinblastin dan vinkristin pada kultur kalus tapak dara dilakukan menggunakan *polyethylene glycol* (PEG). Induksi kalus dilakukan dengan menanam eksplan daun pada medium Zenk dengan penambahan 1 μM NAA + 10 μM Kinetin. Kalus umur 13 minggu digunakan untuk perlakuan menggunakan PEG dengan konsentrasi 0%, 6%, 9%, and 12% (w/v) PEG4000 selama 0, 24, 48, dan 72 jam. Hasil analisis HPLC menunjukkan bahwa perlakuan PEG4000 dengan konsentrasi sampai 12% (w/v) tidak meningkatkan produksi vinblastin dan vincristin, tetap meningkatkan produksi terpenoid (Iskandar & Iriawati, 2016).

F. Temporary immersion bioreactor pada kultur tunas *Gynura procumbens*

Gynura procumbens (Lour.) Merris merupakan salah satu tumbuhan obat yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antikanker, anti-inflamasi, hepatoprotectif, dan antimikrobal. Nodus digunakan sebagai eksplan dan ditanam pada medium MS dengan penambahan kombinasi ZPT IAA 2 mg/L dan BA 4, 6, 8 mg/L dan waktu perendaman 5 menit dengan interval 3 jam; waktu 15 menit dengan interval 12 jam . Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan tunas paling baik diperoleh dari eksplan yang ditumbuhkan pada 6 mg/L kinetin dan kombinasi IAA + BA. Produksi flavonoid tertinggi diperoleh pada perlakuan kombinasi perlakuan frekuensi

perendaman 15 menit dengan interval waktu 12 jam dan medium MS dengan penambahan IAA 2 mg/L, dan BA 8 mg/L (Pramita *et al.*, 2018).



Gambar 4.8 Pengaruh frekuensi perendaman dan ZPT pada induksi tunas dalam *temporary immersion bioreactor*; A1 = frekuensi perendaman 5 menit, interval 3 jam, A2 = frekuensi perendaman 15 menit, interval 12 jam, B1 = IAA 2 mg/L dan BA 4 mg/L, B2 = IAA 2 mg/L dan BA 6 mg/L, B3 = IAA 2 mg/L dan BA 8 mg/L; bar = 1 cm ((Pramita *et al.*, 2018)

BAB V

PENUTUP

Dengan perubahan pola gaya hidup seperti konsumsi makanan dan aktivitas fisik yang dikombinasikan dengan faktor genetik dan kebiasaan merokok, insiden penyakit metabolik termasuk diabetes dan obesitas dan jenis kanker tertentu meningkat di seluruh dunia dan merupakan masalah kesehatan masyarakat dan memberikan dampak ekonomi yang besar. Etnomedis memiliki telah berperan dalam memberikan petunjuk penting tentang peran herbal dan makanan senyawa bioaktif dalam tanaman (herbal) yang berperan dalam pencegahan dan terapi penyakit. Beberapa yang terjadi senyawa alami yang ada di tanaman dan dapat dimakan maupun rempah-rempah diketahui memiliki banyak molekul target dalam jalur pensinyalan, sehingga memberi berpotensi dalam pencegahan/terapi terhadap beberapa penyakit. Misalnya, xanthorrhizol dan curcumin dan dari temulawak, acemanan dan glukomanan dari lidah buaya (aloe vera), epigallocatechin gallate (EGCG) dari teh hijau, likopen dari tomat, inulin dan diosgenin dari umbi gembili telah menunjukkan potensi pra-klinis yang sangat baik terhadap berbagai penyakit. Berdasarkan hal tersebut maka dapat disimpulkan bahwa beberapa tanaman di Indonesia mempunyai potensi sebagai sumber senyawa bioaktif. Penelitian yang telah dilakukan menjadi dasar bagi pengembangan herbal dari tanaman-tanaman tersebut.

Mengingat banyak senyawa alami dalam tanaman yang memiliki potensi untuk terapi penyakit, maka perlu diketahui cara memproduksi senyawa bioaktif dari tanaman tersebut secara lebih efisien. Produksi metabolit sekunder melalui kultur *in vitro* di berbagai negara telah digunakan di industri kosmetik dan obat untuk menghasilkan bahan baku kosmetik dan obat bernilai

ekonomis tinggi dari tumbuhan. Penggunaan kultur in vitro untuk produksi metabolit sekunder di Indonesia masih pada taraf penelitian di laboratorium dan belum diaplikasikan di industri. Padahal penelitian berkaitan dengan hal tersebut sudah banyak dilakukan baik dalam rangka mencari kondisi optimum kultur untuk produksi metabolit sekunder maupun yang berkaitan dengan upaya peningkatan produksinya dengan berbagai metode. Perlu upaya untuk mengenalkan teknologi produksi senyawa bioaktif dengan menggunakan kultur in vitro agar muncul ketertarikan bagi industri untuk menggunakan metode ini. Produksi senyawa bioaktif tanaman secara in vitro di Indonesia umumnya dilakukan menggunakan kultur kalus dan kultur suspensi sel. Senyawa bioaktif yang diproduksi umumnya adalah golongan flavonoid, fenolik dan saponin. Peningkatan produksi senyawa bioaktif melalui kultur in vitro yang telah diteliti Indonesia antara lain dengan menggunakan metode elisitasi, penambahan precursor, immobilisasi, induksi stress, induksi hair root dan aplikasi *Temporary immersion bioreactor*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adityono. 2000. Efek The hijau terhadap data fagositosis makrofag pada mencit yang diinokulasi *L. Monocytogenes*. *Skripsi S1*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.Semarang
- Anggraito, Y.U., Nugrahaningsih, W.H., Musafa, F., Mukhtar, K., Wijayati, N., Rostriana, Y., Safitri, Habibah, N.A. 2020. Secondary metabolites in *Elaeocarpus grandiflorus* cell culture in WPM medium with various concentrations of PGR. *ISNPINSA 2019 Journal of Physics: Conference Series* 1524. 2020.012054 IOP
- Arif, N. 2011. Produksi Solasodin Dalam Kultur Kalus *Solanum khasianum* CLARKE Dengan Penambahan Ekstrak Khamir. *AGRIPLUS*. 21(03):257-263
- Arijanti, S. & Suryaningsih, D.R. 2019. Biosynthesis of secondary metabolites (gingerol, shogaol, and zingerone) from callus of three ginger varieties. *Drug Invention Today* | 11 (2): 496-500
- Attoumbr'e, J., Charlet, S., Baltora-Rosset, S., Hano, C., Raynaud-LeGrandic, S., Gillet, F., Bensaddek, L., Mesnard, F., and Fliniaux, M.A. 2006. High Accumulation of Dehydrodiconiferyl Alcohol-4- β -D-Glucoside in Free and Immobilized *Linum usitatissimum* cell cultures. *Plant Cell Rep* 25:859–864
- Bahlawan, Z. A. S., Damayanti, A., Majid, N. A., Herstyawan, A., & Hapsari, R. A. 2020. Gembili (*Dioscorea esculenta*) Tube Modification via Hydrogen Peroxide Oxidation. *Journal of Physics: Conference Series*, (1444)1.
- Benzie IFF,Wachtel-Galor S. (Eds). 2011. *Herbal medicine: biomolecular and clinical aspects*. CRC Press, 2nd edition. Boca Raton (FL)

- Chaa`bani, G., Tabart, J., Kevers, C., Dommès, J., Khan, M.I., Zaoui, S., Chebchoub, L., Lachaa`l, M., and Karray-Bouraoui, N. 2015. Effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Combined to 6-Benzylaminopurine on Callus Induction, Total Phenolic and Ascorbic Acid Production, and Antioxidant Activities in Leaf Tissue Cultures of *Crataegus azarolus* L. var. Aronia. *Acta Physiol Plant* 37:16
- Cornago, D.F., Sanchez, R.G. & Geronimo, I. 2011. Philippine Yam (*Dioscorea* spp.) Tubers Phenolic Content and Antioxidant Capacity. *Philippine Journal of Science*. 140 (2): 145-152
- Faizal, A., & Sari, A.V. 2019. Paper Enhancement of saponin accumulation in adventitious root culture of Javanese ginseng (*Talinum paniculatum* Gaertn.) through methyl jasmonate and salicylic acid elicitation. *African Journal of Biotechnology*. 18(6) : 130-135
- Faizah, H., Tunjung, M., Purnobasuki, H., & Manuhara, Y.S.W. 2018. Biomass and Flavonoid Production of *Gynura procumbens* (L.). Merr Adventitious Root Culture in Baloon-type Bubble-bioreactor Influenced by Elicitation. *Asian J. Plant Sci*. 17 (2): 107-119
- Faramayuda, F., & Ramelan, R. S. 2016. Optimasi Induksi Kalus Tanaman Cabe Jawa (*Piper retrofractum* Vahl) dengan Berbagai Variasi Zat Pengatur Tumbuh. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 21-25.
- Ferreyra, M.F., Rius, S.P., and Casati, P. 2012. Flavonoids : Biosynthesis, Biological Functions, and Biotechnological Applications. *Plant Sci*. 3(222) : 1-15
- Ghofrani, S., Joghataei, M., Mohseni, S., Baluchnejadmojarad, T., Bagheri, M., Khamse, S., and Roghani, M. 2015. Naringenin improves learning and memory in an Alzheimer's disease rat model:

- Insights into the underlying mechanisms. *European J Pharmacol.* (764), 195-201.
- Gupta, N., Chauhan, R.S., and Pradhan, J.K. 2014. Rutin: A bioactive flavonoid in *Handbook of Medicinal Plants and their Bioactive Compounds*, Ed: N. Gupta ISBN: 978-81-308-0548-1 51-57
- Habibah, N.A. 2006. Kandungan Senyawa Andrografolid pada Suspensi Sel Sambiloto. *Prosiding Seminar Nasional Biologi UNNES*. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Habibah N.A. dan Fitrianti A.2004. Senyawa Bioaktif Pada Kultur Kalus Sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan Aktivitasnya Terhadap Sel Kanker Payudara. *Laporan Penelitian Dosen Muda*. Tidak dipublikasikan
- Habibah, N.A. 2009. Efektivitas Penambahan Elisitor Asam Jasmonik dalam Peningkatan Sintesis Senyawa Bioaktif Andrografolid pada Kultur Suspensi Sel Sambiloto. *BIOSAINTEFIKA* 1 (1) : 11 - 18
- Habibah, N.A., Moeljepawiro, S., Dewi, K., and Indrianto, A. 2016. Flavonoid Production in Callus Cultures from Mesocarp of *Stelechocarpus burahol*. *Biosaintifika* 8 (2) 214-22
- Habibah, N.A., Moeljepawiro, S., Dewi, K., and Indrianto, A. 2017. Flavonoid Production, Growth and Differentiation of *Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. and Th. Cell Suspension Culture. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 20 (4): 197-203, 2017
- Habibah, N.A., Moeljepawiro, S., Dewi, K., and Indrianto, A. 2018. Callus Induction And Flavonoid Production On The Immature Seed of *Stelechocarpus burahol*. *Journal of Physics: Conf. Series* 983 012186. doi :10.1088/1742-6596/983/1/012186
- Habibah, N.A., Widiatningrum, T., Anggraito, Y.U., Rahayu, E.S., Mukhtar, K., Wijawati, N., & Musafa, R. 2019. Growth of *Elaeocarpus grandiflorus* Callus Cultures In

- MS Medium With Various Concentrations Of Growth Regulators. *Journal of Physics: Conference Series* 1321 032037 IOP Publishing doi:10.1088/1742-6596/1321/3/032037
- Habibah, N.A., Nugrahaningsih, W.H., Musafa, F., Rostriana, R., Mukhtar, K., Wijawati, N., & Anggraito, Y.U. 2020. Bioactive Compounds From Callus Culture of *Elaeocarpus grandiflorus*. *Journal of Physics: Conference Series* 1567 032055 IOP Publishing doi:10.1088/1742-6596/1567/3/032055
- Habibah, N.A., Safitri, S., Pratiwi, Y.R., Wijawati, N., Musafa, F., Puspitasari, A.D.S., and Yuniastuti, A. 2021. Callus induction from tuber of lesser yam (*Dioscorea esculenta*) on MS media supplemented by 2,4-D and kinetin. *Journal of Physics: Conference Series* 1918. 052029
- Habibah, N.A. 2021. *Produksi Senyawa Bioaktif Dari Kultur Kalus Gembili (Dioscorea esculenta)*. Deepublisher. Yogya. Pp 60
- Hardainiyan, S., Nandy, BC., & Saxena, R. 2015. Phytochemical Investigation Of Fruit Extract Of *Elaeocarpus ganitrus*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 7 (6)
- Han, K.Y., Lee, Y., Song, J.H., Hwang, Y.S., Lee, W.S., Kim, M.W., and Kim, S.H. 2012. Enhanced Production and Secretion of Rutin and GABA in Immobilized Cells of Mulberry Tree (*Morus bombycis* K.). *Plant Cell Tiss Org*. 108:513–520
- Harijono, Teti, E., Wenny, B.S., dan Isna, S.R. 2011. Karakteristik Kimia Ekstrak Polisakarida Larut Air dari Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta*) yang Ditunaskan. Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.

- Huseini F, Kianbackht S, Hajiaghaee R, Afkhami-Ardekani M, Bonakdaran A, Hashem Dabaghian F. 2012. *Aloe vera* leaf gel in treatment of advanced type 2 diabetes mellitus needing insulin therapy: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Journal of Medicinal Plants*, 11, 19-27
- Iskandar, N.N. & Iriawati. 2016. Vinblastine and Vincristine Production on Madagascar Periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) Callus Culture Treated with Polyethylene Glycol . *Makara Journal of Science*. 20(1): 7-16
- Itokawa H, Shi Q, Akiyama T, Morris-Natschke SL, Lee KH. 2008. Recent advances in the investigation of curcuminoids. *Chinese Medicine* 3 (11): 1-13
- Jadhav A, Liang W, Papageorgiou PC, Shoker A, Kanthan SC, Balsevich J, Levy AS, Heximer S, Backx PH, Gopalakrishnan V. 2013. Catharanthine dilates small mesenteric arteries and decreases heart rate and cardiac contractility by inhibition of voltage-operated calcium channels on vascular smooth muscle cells and cardiomyocytes. *J Pharmacol Exp Ther*. 345(3):383-92.
- Jantan I, Saputri FC, Qaisar MN, Buang F. 2012. Correlation between chemical composition of *Curcuma domestica* and *Curcuma xanthorrhiza* and their antioxidant effect on human low- density lipoprotein oxidation. *Evid Based Complement Alternat Med*. doi:10.1155/2012/438356
- Kehie, M., Kumaria, S., and Tandon, P. 2013. Manipulation of Culture Strategies to Enhance Capsaicin Biosynthesis in Suspension and Immobilized Cell Cultures of *Capsicum chinense* Jacq.cv.Naga King Chili. *Bioprocess Biosyst Eng*. DOI10.1007/s00449-013-1076-2

- Khaniyah, S., Habibah, N.A., & Sumadi. 2012. Pertumbuhan Kalus Daun Dewa [*Gynura procumbens* (Lour) Merr.] Dengan Kombinasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Dan Kinetin Secara In vitro. *Biosaintifika* 4 (2) 98-105
- Kim MB, Kim C, Song Y, Hwang JK. 2014. Antihyperglycemic and anti-inflammatory effects of standardized *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. extract and its active compound xanthorrhizol in high-fat diet-induced obese mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* doi:10.1155/2014/205915.
- Krestiani, V. & Rukmi. 2013. Kajian Konsentrasi Naa Dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Kalus Dari Kotiledon Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) Secara In Vitro. 6 (1). *Jurnal Sains dan Teknologi Muria Kudus.* 16-20
- Kochan, E., Wasiela, M., and Sienkiewicz, M. 2012. The Production of Ginsenosides in Hairy Root Cultures of American Ginseng, *Panax quinquefolium* L. and their antimicrobial activity. *In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant.* DOI10.1007/s11627-012-9469-5
- Kumar, S., and Pandey, A.K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, 2013. *The Scientific World Journal* <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>
- Lee JK, Lee MK, Yun YP, Kim Y, Kim JS, Kim YS, Kim K, Han SS, Lee CK. 2001. Acemannan purified from *Aloe vera* induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. *International Immunopharmacology*, 1, 1275-1284.
- Linberg, S., Kader, M.A., and Yemelyano, V. 2012. Calcium Signalling in Plant Cells Under Environmental Stress. In *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*. Ed. P.

- Ahmad and Prasad, M.N.V. Springer New York. pp 325-360.
- Liu, N., Zeller, F.J., and Chen, Q.F. 2013. The flavonoid Content in Leaves and Inflorescences of the Wild Perennial *Fagopyrum cymosum* complex. *Genet Resour Crop Evol* 60:825-838
- Lobo R, Prabhu KS, Shirwaikar A, Ballal M, Balachandran C. 2010. A HPTLC densitometric method for the determination of aloeverose in *Aloe vera* gel. *Fitoterapia*, 81, 231-233
- Mar'atirrosyidah, R. dan Teti, E. 2015. Aktivitas Antioksidan Senyawa Bioaktif Umbi Lokal Inferior. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3(2): 594-601.
- Masoumian, M., Arbakariya, A., Syahida, A., and Maziah, M. 2011. Effect of Precursors on Flavonoid Production by *Hydrocotyle bonariensis* Callus Tissues. *Afr. J. Biotechnol.* 10(32), 6021-602
- Musafa, F., Nugrahaningsih WH, Anggraito, Y.U., Wijawati, N., Rostriana, Y., Mukhtar, K., , Safitri, & Habibah, N.A. Pertumbuhan Kalus Rejasa (*Elaeocarpus grandiflorus*) dari Eksplan Tangkai Muda pada Media WPM dalam Kondisi Gelap. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Ke-7*. FMIPA Universitas Negeri Semarang. 32-37
- Moses T, Papadopoulou KK, Osbourn A. 2014. Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology.* 49(6):439-462
- Nartop, P., Akay, S., and Gurel, A. 2013. Immobilization of *Rubia tinctorum* L. suspension Cultures and Its Effects on Alizarin and Purpurin Accumulation and Biomass Production. *Plant Cell Tiss Org.* DOI10.1007/s11240-012-0212-z

- National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound Summary for CID 5318517, Andrographolide. Retrieved August 24, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Andrographolide>.
- Ni Y, Turner D, Yates KM, Tizard, I. 2004. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. *International Immunopharmacology*, 4, 1745-1755
- Noviyanti, R., Sari, R.L.K., Kristanti, A.N., Yachya, A., & Manuhara, Y.S.W. 2017. Biomass and Flavonoid production of *Gynura procumbens* adventitious roots induced by sucrose, Phenylalanine and Tyrosine. *Bioscience Research*. 14(4): 934-941.
- Nuryana, I. 2018. Keragaman Jamur Mikoriza Arbuskular (JMA) dalam Akar Tanaman Gembili (*Dioscorea esculenta*) yang Tumbuh di Ketinggian Tempat Berbeda. *Biotrends*, 9(1): 43-46.
- Oon Seok F., Meenakshii N., Thiam TT., Shamarina S., Nur KK., Mohd SF., Sa'ariwijaya and Yew HC. 2015. Xanthorrhizol: a review of its pharmacological activities and anticancer properties. *Cancer Cell Int* 15:100 DOI 10.1186/s12935-015-0255-4
- Pandiangan, D. & Nainggolan, N. 2006. Peningkatan Kandungan Katarantin pada Kultur Kalus *Catharanthus roseus* dengan Pemberian Naphtalene Acetic Acid. *Hayati*. 13 (3):90-94
- Perassolo, M., Quevedo, C.V., Giulietti, A.M., and Talou, J. 2011. Stimulation of the Proline Cycle and Anthraquinone Accumulation in *Rubia tinctorum* Cell Suspension Cultures in the Presence of Glutamate and Two Proline Analogs. *Plant Cell Tiss Org*. 106:153-159
- Permanasari, Y., Jadid, N., Prasety, E.N. 2015. Pengaruh Asam Salisilat Dan Fenilalanin Terhadap Kandungan

- Total Asam Fenol Pada Kultur Suspensi Sel *Moringa oleifera* Lam. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 4(1): 2337-3520
- Prabowo, A.Y., Estiasih, T., & Purwantiningrum, I. 2014. Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta* L.) Sebagai Bahan Pangan Mengandung Senyawa Bioaktif: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(3): 129-135.
- Prakoeswa, S.A., Tanowidjaya, R., & Suryaningsih, D.R. 2019. Biosynthesis Of Contents Of Gingerol, Shogaol And Zingerone From “Jahe Merah” (*Zingiber officinale varieas rubrum*) Calluses By Treatments On Types Of Mediums And Carbohydrates. *International Conference on Science, Technology, and Environment*. Jogyakarta, 29-30 August
- Pramita, A.D., Kristanti, A.N., Sugiharto, Utami, E.S.W., & Manuhara, Y.S.W. 2018. Production of biomass and flavonoid of *Gynura procumbens* (Lour.) Merr shoots culture in temporary immersion system. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 16 : 639-643
- Purwantiningsih, Hakim, A.R., and Purwantini, I. 2010. Antihyperuricemic Activity Of The Kepel [*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th.] Leaves Extract and Xanthine Oxidase Inhibitory Study. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2 (2) : 123 – 127
- Purwianingsih, W., Febri, S., & Kusdianti. 2016. Formation Flavonoid Secondary Metabolites in Callus Culture of *Chrysanthemum cinerariifolium* as Alternative Provision Medicine. *AIP Conference Proceedings*; <https://doi.org/10.1063/1.4941150> Published Online: 08 February 2016
- Rahimi, S., Hasanloo, T., Najafi, F., and Khavari-Nejad, RA. 2011. Enhancement of Silymarin Accumulation using Precursor Feeding in *Silybum marianum* hairy root cultures. *POJ*. 4(1):34-39

- Ruslan, K., Selfitri, A.D., Bulan, S.A., Rukayadi, Y. & Elfahmi. 2012. Effect of *Agrobacterium rhizogenes* and elicitation on the asiaticoside production in cell cultures of *Centella asiatica*. *Pharmacognosy Magazine*.8 (30): 111-115
- Roostika, I., Purnamaningsih, R., Darwati, I., & Mariska, I. 2007. In Vitro Culture Manipulation on Pruatjan for Secondary Metabolite Production. *Jurnal AgroBiogen* 3(2):55-59.
- Sa-Ngiamsuntorn K, Suksatu A, Pewkliang Y, Thongsri P, Kanjanasirirat P, Manopwisedjaroen S, Charoensutthivarakul S, Wongtrakoongate P, Pitiporn S, Chaopreecha J, Kongsomros S, Jearawuttanakul K, Wannalo W, Khemawoot P, Chutipongtanate S, Borwornpinyo S, Thitithanyanont A, Hongeng S. 2021. Anti-SARS-CoV-2 Activity of *Andrographis paniculata* Extract and Its Major Component Andrographolide in Human Lung Epithelial Cells and Cytotoxicity Evaluation in Major Organ Cell Representatives. *J Nat Prod*. 84(4):1261-1270.
- Sari, Y.P., Kusumawati, E., Saleh, C., Kustiawan, W., & Sukartiningih. 2018. Effect of sucrose and plant growth regulators on callogenesis and preliminary secondary metabolic of different explant *Myrmecodia tuberosa*. *N U S A N T A R A B I O S C I E N C E*. 10 (3): 183-192
- Setiawati, R.T., Ayalla, A., Nurzaman, M., Kusumaningtyas, V.A., & Bari. 2020. Analysis of Secondary Metabolites of Shoot, Callus Culture and Field Plant of *Chrysanthemum morifolium* Rama. . *Jurnal ILMU DASAR*. 21 (1): 1-10
- Sing, B., & Sharm, R.A. 2020. *Secondary Metabolites of Medicinal Plants Ethnopharmacological Properties, Biological Activity and Production Strategies*. Wiley. Pp 1420

- Syklowska-Baranek, K., Pietrosiuk, A., Naliwajski, M.R., Kawiak, A., Jeziorek, M., Wyderska, S., Łojkowska, E., and Chinou, I. 2012. Effect of L-Phenylalanine on PAL Activity and Production of Naphthoquinone Pigments in Suspension Cultures of *Arnebia euchroma* (Royle) Johnston. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant*.48:555–564
- Sugiyarto, L., & Kuswandi, P.C. 2014. Callus induction of binahong leaves (*Anredera cordifolia* L.) for the development of traditional medicinal plant. *J. Sains Dasar*. 3(1) 56 – 60
- Sugiyarto, L., & Kuswandi, P.C. 2014. Pengaruh 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) Dan Benzyl Aminopurin (BAP) Terhadap Pertumbuhan Kalus Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* L.) Serta Analisis Kandungan Flavonoid Total. *Jurnal Penelitian Saintek*. 19 (1): 23-30
- Sukmawati, D., Herlina, Muslimin & Suwastika, N. 2018. Induction Of Callus And Metabolite Secondary Brotowali (*Tinospora crispa* L.) ON MS Medium Addition of 2,4-D ZPT and Coconut Water by In Vitro. *Natural Science : Journal of Science and Technology*.7 (2) : 268 – 273
- Susilaningsih N, Yuniastuti, A 2004. Pengaruh Polifenol teh hijau dan komponen aktifnya terhadap aktivitas makrofag dalam membunuh bakteri. Laporan Penelitian. *Lembaga Penelitian*. Universitas Diponegoro. Semarang
- Susilaningsih N, Yuniastuti, A 2005. Efek Polifenol teh hijau sebagai imunomodulator pada infeksi. *Laporan penelitian*. Lembaga penelitian Universitas Diponegoro. Semarang
- Suarini, SU, Retno SI, Yuniastuti, A. 2008. Mekanisme Likopen Tomat Pada Fraksi Lipid Serum Tikus Hiperkolesterolemia. *Laporan Penelitian*. Lembaga Penelitian Universitas Negeri Semarang.

- Veerashree, V., Anuradha, C.M., and Kumar, V. 2012. Elicitor-enhanced Production of Gymnemic Acid in Cell Suspension Cultures of *Gymnema sylvestre* R.Br. *Plant Cell Tiss Org.* 108:27–35
- Wardani, D.P., Solichatun, & Setyawan, A.D. 2004. Pertumbuhan dan Produksi Saponin Kultur Kalus *Talinum paniculatum* Gaertn. pada Variasi Penambahan Asam 2,4- Diklorofenoksi Asetat (2,4-D) dan Kinetin. *Biofarmasi 2* (1): 35-43
- Wijawati, N., Habibah, N.A. Musafa, F., Mukhtar, K., Anggraito, Y.U., & Widiatningrum, T. 2019. Pertumbuhan Kalus Rejasa (*Elaeocarpus grandiflorus*) dari Eksplan Tangkai Daun pada Kondisi Gelap. *Life Science 8* (1) :17-24
- Yeni, H., Indrianto, A., & Woro., T. 2019. Profil Senyawa Bioaktif Ekstrak Kalus Biji Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Pasca Induksi Metil Jasmonat. *Biotropic.* 3(2): 146–160
- Yuliani, F., Dewi, W.S., Yunus, A., & Siswanto, U. 2018. The Study of Artemisinin Content in Callus *Artemisia annua* L. Cultures Elicited with Endophytic Fungi *Aspergillus sp.* *Molekul.* 13(2): 155 – 161
- Yuniastuti, A dan R Susanti. 2010. Peran Lidah Buaya Sebagai Imunomodulator. *Prosiding Seminar Nasional “Pembelajaran Sains dan Perkembangan Biologi di Era Molekuler”* 27 Pebruari 2010. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang
- Yuniastuti A. 2014. Peran Pangan fungsioanl Dalam Meningkatkan Derajat Kesehatan. *Prosiding Seminar Nasional. “Seminar Nasional pangan dan Gizi”* 09 Agustus 2014. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Muhamaddiyah Semarang.

- Yuniastuti, A., RS Iswari, R. Susanti. 2015. The Study of Bioactive Compound obtained from Gembili (*Dioscorea esculenta*), Gadung (*Dioscorea hispida*), and Garut (*Maranta arundinacea*) Tubers as The Source of Antioxidants. *The International Conference Natural Resources Biotechnology : From Local to Global*. Tanggal 8-9 September 2015. Fakultas Bioteknologi Universitas Atmajaya. Yogyakarta.
- Yuniastuti, A., RS Iswari, R. Susanti. 2016. Antioxidant Activity in Various Processed Products of Inferior Local Tubers (*Dioscorea Sp*). *International Conference on Natural Resources and Life Sciences (NRLS)*. Fakultas Bioteknologi Ubiveristas Surabaya. Surabaya.
- Yuniastuti, A., RS Iswari, Indah H. 2017. Physiocochemical Analysis of Inulin Obtained From Lesser Yam (*Dioscorea Esculenta*). *International Nutrition and Health Science (INHESION)*. Fakultas Kedokteran. Universitas Muhammadiyah yogyakarta. 4 November 2017. Yogyakarta.
- Yuniastuti, A., RS Iswari, Yanuarita, T. 2018. Effectiveness Platelet Antiaggregation of Lesser Yam (*Dioscorea esculenta*) Ethanol Extract In Hypercholesterolemia Male Rats (*Rattus norvegicus*). *1th International Conference on Preventive Medicine (ICPM)*. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang.
- Yuniastuti, A. Iswari R.S. Yanuarita T. 2018. Effect of Extract Inulin from Lesser yam (*Dioscorea esculenta*) on plasma insulin and Blood Glucose Levels of The Wistar Rats Induced Sterptozotozin. *International Conference Antioxidant and Degeneratif Diseases*. 18-19 Juli 2018. Hotel Pullman. Kuala Lumpur. Malaysia.
- Yuniastuti, A., RS Iswari., Yanuarita, T. 2019. Inulin Of Lesser Yam (*Dioscorea esculenta*) Tuber As An Colorectal Anticancer Agent *In Silico*. *1st International*

Conference Biotechnology. Fakultas Kedokteran.
Universtas Yarsi. Jakarta.

- Yuniastuti A., R Susanti., Habibah, NA. 2019. *In silico* Approach for Revealing the Antidiabetic Activity of *Dioscorea esculenta*. *2st International Food Reserach Conference.* Fakultas Teknologi Pangan. 27-30 Agustus 2019. Universtas Putra Malaysia.
- Zhang L, Tizard IR. 1996. Activation of a mouse macrophage cell line by acemannan: the major carbohydrate fraction from *Aloe vera* gel. *Immunopharmacology*, 35, 119-128.
- Qu, J., Zhang, W., and Yu, X. 2011. A Combination of Elicitation and Precursor Feeding Leads to Increased Anthocyan in Synthesis in Cell Suspension Cultures of *Vitis vinifera*. *Plant Cell Tiss Org.* 107:261-269

ISTILAH-ISTILAH PENTING

Antioksidan	: Senyawa yang dapat menangkal radikal bebas, menghindarkan agar lemak dan kolsetrol tidak mengalami oksidasi
Antihiperlipidemia	: Mencegah terjadinya peningkatan lemak darah
Anti-angiogenic	: Terkait pada penyakit jantung koroner, stroke, dsb
Anti Inflamasi	: Anti peradangan
Anti koagulasi	: Mencegah penggumpalan darah
Curcumin	: Bahan kimia bioaktif yang terdugung di dalam tumbuhan famili <i>Zingiberaceae</i>
Enzim	: Protein yang sangat kompleks yang dihasilkan makhluk hidup, penting, perannya sebagai katalisator dalam berbagai prose kimia dalam tubuh
Fagositosis	: Persitiwa sel makrfag membunuh bakteri
Fitofarmaka	: Tanaman yang berkhasiat obat
Food combining	: Pola pangan yang memanfaatkan komponen fitokimiawi nirgizi sebagai pola menu makanan
Gulma	: Tumbuhan (termasuk bangsa rumput) yang merupakan pengganggu bagi kehidupan tanaman utama; tumbuhan pengganggu
Hiperkolesterolemi	: Konsentrasi kolesterol darah tinggi
Imunomodulator	: Menaktivasi dan mensupresi sistem imun
Laxative	: Obat pencahar
Lycopene	: Senyawa kimia yang berperan sebagai pigment warna merah pada tomat dan berbagai senyawa lain.

- Karoten : Pigmen merah dalam tumbuhan dan daun hijau, terdapat pada wortel, minyak palem, dan jagung kuning; dalam daun tertutup oleh klorofil; sebagai provitamin A, diubah menjadi vitamin A dalam tubuh
- Karotenoid : Satu dari kumpulan pigmen berwarna kuning atau merah tua, banyak terdapat pada lemak nabati dan lemak hewani
- Kekebalan : Kemampuan hewan, tumbuhan maupun manusia melawan serangga / mikroorganisme / jasad renik patogen sehingga tidak menjadi sakit karena terbentuknya antibodi
- Kemotaksis : Gerakan fagosit ke tempat infeksi sebagai respon terhadap berbagai faktor seperti produk bakteri
- Klorofil : Pigmen hijau yang terdapat pada daun atau tumbuhan rendah yang berwarna hijau, misalnya : ganggang, lumut dan paku-pakuan; pigmen ini terkandung dalam kloroplas hijau, mempunyai kemampuan berfotosintesis
- Kuratif : Pencegahan penyakit
- Makrofag : Mempunyai beberapa granula dan melepaskan beberapa bahan antara lain : lisosim, komplemen, interferon dan sitokin
- Nir gizi : Non gizi, bukan gizi
- Pangan Fungsional : Pangan yang karena kandungan komponen aktifnya dapat memberikan manfaat bagi kesehatan, di luar manfaat yang diberikan oleh zat-zat gizi yang terkandung di dalamnya.
- Phytochemical : Senyawa bahan alami yang terdapat di dalam tumbuhan.

- Platelet : Struktur berbentuk piringan kecil dalam aliran darah yang digunakan untuk koagulasi darah
- Prebiotik : Bakteri yang menguntungkan yang hidup dan ditambahkan pada bahan pangan yang berpaengaruh baik terhadap kesehatan
- Sistem imun : Semua mekanisme yang digunakan tubuh untuk mempertahankan keutuhan tubuh sebagai perlindungan terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup
- Synbiotik : Hubungan antara probiotik dan prebiotik
- Xenobiotik : Bahan pangan yang mengandung prebiotik dan probiotik sekaligus

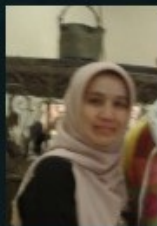
SENYAWA BIOAKTIF

TANAMAN DI INDONESIA



Dr. Noor Aini Habibah, M.Si dilahirkan di Cilacap, 7 November 1971. Pendidikan S1 ditempuh pada tahun 1991-1994 di Jurusan Biologi Institut Teknologi Bandung. Pendidikan S2 ditempuh pada tahun 2000-2003 di Institut Teknologi Bandung. Pendidikan S3 ditempuh pada tahun 2013-2017 di Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dengan judul disertasi : "Produksi Flavonoid Dan Hormon Endogen Serta Korelasinya Dengan Tingkat Diferensiasi Pada Kultur Kepel [*Stelechocarpus burahol* (BL) Hook. F. & Th.]". Sejak tahun 1998 sebagai staf pengajar di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Semarang (UNNES). Mata kuliah yang diampu antara pada strata S1 antara lain: Kultur Jaringan Tumbuhan, Dasar Kultur Jaringan, Genetika, Biologi Molekular, dan Biologi Umum. Mata kuliah S2 yang diampu : Teknik Kultur Jaringan dan Bioteknologi. Penelitian yang dilakukan sebagian besar berkaitan dengan produksi metabolit sekunder berbagai tanaman yang ada di Indonesia melalui teknik kultur jaringan antara lain tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*), daun dewa (*Gynura procumbens*), kepel (*Stelechocarpus burahol*), rejaso (*Elaeocarpus grandiflorus*) dan gambili (*Dioscorea esculenta*). Saat ini menjadi Sekretaris Jurusan Biologi pada masa jabatan 2019-2023.

Ari Yuniastuti merupakan salah satu dosen di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang, dan juga sebagai professor bidang Gizi dan Kesehatan. Latar belakang pendidikan Sarjana Nutrisi Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada (Lulus 1993). Magister Biomedik Universitas Diponegoro (Lulus 2004) dan Doktor Kedokteran Dasar Universitas Hasanuddin (Lulus 2013). Aktif antara lain : Studi Aktivitas Antioksidan dan Dari Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kulit Buah Rambutan, Pengembangan Pangan Fungsional Berbasis Umbi-umbian Sebagai Sumber Antioksidan dan Dalam Upaya Meningkatkan Derajat Kesehatan Masyarakat Melalui Pendekatan Nutrigenomik, Pengembangan Produksi Inulin dan FOS berbasis Gambili (*Dioscorea esculenta*) sebagai antikanker dan antidiabetik, dan Kajian Seluler dan Molekular Aktivitas Antikanker Kolorektal Inulin Umbi Gambili (*Dioscorea esculenta*) secara *In Vitro* dan *In Vivo*. Buku dan monograf yang telah diterbitkan antara lain : Gizi dan Kesehatan, Nutrisi Mikromineral dan Kesehatan, Probiotik *dalam Perspektif Kesehatan).



Dasar-dasar molekuler Glutathione dan perannya sebagai antioksidan, Umbi-umbian dan Kesehatan, Potensi Inulin bagi Kesehatan. Paten pada tahun 2020 tentang Metode Pembuatan inulin Tergelatinasi dengan nomor P/ID SID201904410. Kerjasama Penelitian dengan Fakultas Sains dan Kesehatan University Putra Malaysia (UPM). Publikasi karya ilmiah yaitu: Pengaruh Suplemen Madu Kelengkeng Terhadap Kadar TSA dan MDA Tikus yang diinduksi Timbal (Pb). Kajian Glutathione dan F2 Isoprostane pada pasien Tuberkulosis Paru yang mendapat terapi Obat Antituberkulosis. Glutathione and F2 Isoprostane Level in the Blood of the Patient of Pulmonary Tuberculosis at Makassar, South Sulawesi, Indonesia . Gaultherin Production from Gandapura (*Gaultheria fragrantissima*) by Enzymatic Inactivation of Gaultherase, Polymorphism of Glutamate-Cysteine Ligase Subunit Catalytic (GCLC) Gene in Pulmonary Tuberculosis Patients. Terlibat aktif dalam berbagai pengabdian yaitu: (1) Peningkatan Kesehatan Keluarga Melalui Pemanfaatan Kolong-Kalong di Desa Jatitejo Kec. Gunungpati Kota Semarang, (2) Peningkatan Peran Masyarakat Dalam Upaya Pencegahan dan Pengendalian Demam Berdarah Dengue (DBD) di Kecamatan Gunungpati, (3) Pengembangan Peningkatan Kapasitas UMKM dan Pengembangan Olahan Hasil Ternak Melalui Divesifikasi Produk Berbahan Dasar Susu di Kelurahan Cepoko Gunungpati Semarang, (4) Pemberdayaan Kader Posyandu "Melati" Dalam Penyediaan PMT-ASI Bagi Balita di Kelurahan Cepoko Gunungpati, Semarang, (5) Pemberdayaan Pkk Rw 4 Kalisegoro Dalam Pengembangan Taman Toga, (6) Pos PAUD Melati Cepoko Gunungpati Semarang pada tahun. Penghargaan yang telah diperoleh seperti Dosen Teladan pemberi penghargaan Universitas Negeri Semarang.



Perkumpulan Rumah Cemerlang Indonesia
Pondok Karisma Residence
Jalan Rafflesia VI D.151
Panglayungan, Cipedes Tasikmalaya – 085223186009

