

TEKNOLOGI PRODUKSI BIOMASA METABOLIT SEKUNDER SEBAGAI PENYEDIAAN BAHAN BAKU BIO-INDUSTRI MELALUI KULTUR SEL

PENDAHULUAN

Tanaman adalah sumber metabolit sekunder yang secara alamiah berperan dalam adaptasi lingkungan, sebagai *antibiotic*, anti jamur, anti virus, anti bakteri untuk melindunginya dari pathogen (*phytoalexins*), anti germinasi atau racun untuk tanaman lain (*allelopathy*) [1]. Saat ini metabolit digunakan sebagai bahan obat-obatan (*pharmaceuticals*), perasa (*flavors*), pewangi (*fragrances*), pewarna (*pigment*) dan *food-additives* [2, 3], agro-kimia (bio-pestisida) [4, 5]. Penggunaan berbagai produk ini, memiliki isu keamanan (*safety*), kualitas (*quality*), kemantapan (*consistency*), kemanjuran (*efficacy*), dan kesehatan [6].

Atas perannya itu kebutuhan metabolit sebagai bahan baku industri terus meningkat. Kebutuhan itu selama ini dipanen dari alam yang tumbuh liar atau dibudidayakan sekedarnya [7]. Ini menyebabkan reduksi keragaman genetik di alam dan keragaman komposisi kimia dan efek biologi produk [8]. Untuk kemandirian penyediaan bahan baku metabolit, membangun kawasan produksi yang produktif menjadi pilihan yang mudah dan lebih murah. *Sustainability* dalam produksi bergantung kepada kemandirian perbenihan, perubahan iklim global, teknologi produksi yang menurunkan kontaminasi pada produk seperti senyawa logam berat [9], organisme tular tanah, penyakit pada daun, herbisida dan pestisida [10], polutan [11]. Ini menurunkan kualitas produk bioindustri dan beresiko gangguan kesehatan [12] jika dikonsumsi. Selain itu, persentase bahan aktif yang rendah (0,8-2%) di dalam volume biomassa kering, menyebabkan kebutuhan biomassa dalam jumlah besar. Jumlah dan kualitas senyawa yang dipanen dari lapang dibatasi populasi, durasi produksi dan faktor lingkungan [13].

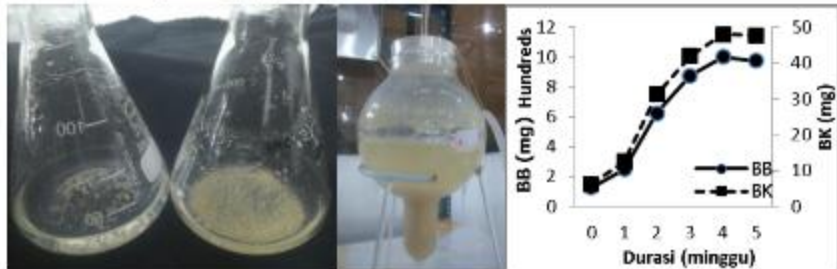
Kemajuan *biosains*, *bioengineering* dan *biotechnology* membuat kultur sel dan organ berkembang dari metode media semisolid yang manual, menjadi metode media cair diatas *shaker* dan bioreaktor yang otomatis [14]. Ini menjadi alat potensial untuk produksi metabolit seperti yang dikoleksi dari alam, menggantikan fungsi tanaman lengkap di lapang [15], "natural identical". Metode kultur jaringan dapat dimanipulasi untuk mendapatkan pertumbuhan biomassa yang lebih optimum [16], diikuti dengan upaya menaikkan metabolit spesifik yang dikandungnya [17] dalam prosedur yang

disebut elisitasi. Beberapa tanaman sudah dijadikan model produksi biomassa dan metabolit sekunder, seperti ginseng [16], Echinacea [18] dan artemisia [19]. Teknologi biosains-bioengineering ini sangat menjanjikan untuk dimanfaatkan sebagai "tools" untuk komersialisasi penyediaan bahan baku bioindustri yang kontinyu dari diversiti yang kandungan metabolitnya sudah teridentifikasi dengan baik secara genetik dan biokimia [8]. Peluang itu terbuka pula untuk jeruk, terutama untuk kebutuhan farmasi dan industri makanan.

METODOLOGI

Sel kultur tanaman jeruk

Penelitian kultur sel jeruk telah dilakukan pada berbagai jenis jeruk [20-23] yang sebagian besar pada media dasar Murashige dan Skoog (MS) [24]. Pada jeruk JC dan keprok madu, produksi sel secara regular telah dapat dilakukan pada media semisolid, *shaker* dan air-lift *bioreactor* [21, 25, 26]. Untuk pertumbuhan sel yang optimal, sel adaptif pada media kultur dipelihara pada media MS yang diperkaya dengan sitokinin benzylaminopurine (BAP) (0.25-0.5 mg/L), malt-extract (500 mg/L), dengan sumber karbon sucrosa (35-50 g/L) (Gambar 1).



Gambar 1. Pertumbuhan biomassa (BB) JC pada kultur *shaker* dan *bioreactor* Kultur *shaker* umur 2 dan 4 minggu, dan *bioreactor* 30 hari setelah inkubasi (kanan) [26] dan model kurva pertumbuhan selama 5 minggu inkubasi pada kultur *shaker* (kanan)

HASIL KEGIATAN

Jumlah biomassa yang dihasilkan dalam kultur sel, pada media semisolid, *shaker* dan *bioreactor* berbeda pada setiap metode dan periode kultur (Tabel 1).

Tabel 1. Produktivitas dan efisiensi produksi sel berdasarkan metode kultur

No	Metode Kultur	Multiplication Rate	Durasi (Minggu)	Efisiensi
1	Semisolid	7-10 kali	5	Rendah
2	<i>Liquid-Shaker</i>	8-11 kali	2	Sedang
3	<i>Liquid-bioreactor</i>	50-60 kali	5	Tinggi

(Data diolah dari: [32])

Produktivitas setiap metode ini, dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti jumlah udara (CO_2 dan/atau O_2) terlarut, kontak sel/organ dengan media dalam kondisi total atau parsial immersion, kondisi osmotikum, dan level optimasi [27-29]. Faktor-faktor disebutkan diatas mempengaruhi kondisi fisiologi dan metabolisme sel tanaman yang berhubungan dengan "yield" yang dihasilkan [29, 30]. *Bioreactor* menghasilkan yield terbanyak dan cepat, karena manipulasi lingkungan yang optimal, menyebabkan metabolisme rate yang tinggi [31], sehingga lebih tepat digunakan untuk komersialisasi [17].

Produksi metabolit jeruk. Berbagai laporan telah dipublikasi tentang kandungan metabolit jeruk dan efeknya terhadap kesehatan manusia. Jeruk dapat mencegah penyakit kanker dan stroke, jantung koroner, penyakit-penyakit neurodegeneratif [33, 34], obesitas [35] dan diabetes [36]; yang menjadi wabah di Negara berkembang.

Batang, akar, daun dan buah jeruk mengandung sejumlah metabolit sekunder penting seperti flavonoid (termasuk flavanone, flavone, flavonol dan anthocyanidin (blood orange) [34, 37], asam amino, triterpene, phenolic acid, carotenoid, ascorbic acid (vitamin C), folate, dietary fiber, mineral [38], asam organik (citric dan malic acid) dan gula [39]. Gula terdiri dari karbohidrat dalam bentuk fruktosa, glukosa, dan sukrosa (1:1:2), adalah komponen yang terbanyak [40]. Kapasitas antioksidan buah jeruk beragam diantara spesies, varietas, cara processing, lingkungan, dan kondisi hortikultura seperti pemilihan batang bawah (rootstock), irigasi, dan iklim [41, 42].

Hasil penelitian menunjukkan bahwa metabolit itu dapat dipanen dari alam dan kultur sel. Pengamatan dan evaluasi kandungan metabolit pada 11 aksesori jeruk adaptif

Indonesia menunjukkan bahwa dari biomassa daun jeruk yang dipanen dari pohon induk jeruk yang ditanam di dalam screen-house, dapat diperoleh kandungan fenolik dan flavonoid dalam jumlah beragam menurut spesies dan varietas (

Tabel 2).

Tabel 2. Kandungan Metabolit Sekunder 11 Aksesi Daun Jeruk Fungsional dan Kalus

No	Sampel Daun Jeruk	Total Fenolik (mg GAE/g BK)	Total Flavonoid (mg QE/g BK)	Limonin (µg/g BK)	Naringin (µg/g BK)
1	Monte Hondu. M	9,018 ± 0,918	8,072 ± 0,632		
2	Monte Hondu. B	9,238 ± 0,738	6,530 ± 0,227		
3	Lemo Swangi	8,947 ± 0,152	9,362 ± 0,775		
4	Ganesha Aceh	8,660 ± 0,474	5,979 ± 0,376		
5	Purut	5,721 ± 0,452	2,755 ± 0,231		
6	Mexican Lime	7,759 ± 0,130	5,337 ± 0,268		
7	Sambal	8,920 ± 0,358	7,845 ± 0,428		
8	Grape fruit	6,576 ± 0,223	5,346 ± 0,203		
9	Keprok Tening	7,053 ± 0,221	5,500 ± 0,355		
10	Citrumelo	6,657 ± 0,061	3,843 ± 0,427	199,085	46,170
11	JC (daun)	9,883 ± 0,470	8,152 ± 0,918	250,980	1,155
12	JC SEL	1,349 ± 0,282	0,144 ± 0,011	120,725	96,585

Sumber: [21]

Observasi kandungan metabolit dari kultur sel dilakukan sebagai pembanding. Biomassa dari kultur sel mengandung senyawa fenolik, flavonoid dan metabolit spesifik seperti Limonin dan naringin, meskipun dengan jumlah yang lebih sedikit. Namun demikian produktivitasnya lebih tinggi daripada daun dari alam. Kultur sel hanya memerlukan durasi produksi selama 4 minggu sedangkan daun diproduksi pada periode 8-12 minggu. Kultur sel dapat diproduksi di dalam ruang terkendali pada posisi vertical, sementara tanaman dilapang memerlukan areal yang luas untuk mendapatkan volume berat kering tertentu.

Manfaat dan Dampak. Inovasi teknologi produksi biomassa dapat berperan penting dalam dua area strategi yaitu pertama menyediakan metabolit sekunder sebagai bahan baku bioindustri dan kedua menyediakan benih. Penerapannya akan mengakselerasi tercapainya kemandirian perbenihan, bahan baku bioindustri berbasis produk hortikultura dan swasembada produk hortikultura. Sistem kultur jaringan ini memfasilitasi "molecular farming" dalam sistem *soilless culture* yang menghasilkan bahan baku bioindustri yang bebas kontaminasi pestisida, metal toksik dan patogen

sehingga aman konsumen dan tidak mencemari lingkungan (*zero waste*). Proses produksi secara *in vitro* menjamin konsentrasi bahan aktif yang seragam (mudah standarisasi), massal dan berkelanjutan sepanjang tahun tanpa pengaruh iklim.

PENUTUP

Teknologi produksi biomassa dan metabolit sekunder pada skala penelitian menggunakan teknologi semisolid, *liquid (shaker dan bioreactor)* telah dikuasai dengan baik. validitas, evaluasi pada level pilot dan komersial perlu dilakukan untuk mengembangkan teknologi, fasilitas dan SDM yang siap diadopsi dan diakuisisi oleh pengguna teknologi.