

Biotransformasi Pirokatekol Glikosida Menggunakan Kultur Suspensi Sel *Solanum mammosum* L.

Biotransformation of Pyrocatechol Glucoside Using Cell Suspension Culture from Calus of *Solanum mammosum* L.

Yati Sudaryati Soeka dan Joko Sulisty*^{*}

*Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI Cibinong Science Center
Jl. Raya Bogor – Jakarta Km. 46 Cibinong 16911
E-mail: josulistyo@yahoo.com *Penulis untuk korespondensi*

Abstract

A synthesis of pyrocatechol glucoside was carried out by applying biotransformation cell culture suspension from calus of *Solanum mammosum* L., on modified medium of Murashige and Skoog (MS). A growth maximum volume at 15,5 ml of cell culture suspension of *S. mammosum* was achieved on day-8 incubation. The results showed that pyrocatechol glucoside as a biotransformation product that was obtained by application of Pyrocatechol at 50-200 ppm was determined by TLC and identified at *R_f* value of 0.82–0.83. Furthermore, the biotransformation products were determined by HPLC obtained from the cell culture suspension at concentration of 200 ppm pyrocatechol so that resulted in reaction products based on standard solution. The peaks number 1, 2 and 3 with retention time 2.53 min, 4.62 min and 7.58 min were appropriate to the retention time cellobiose, glucose and methyl α -glucoside, respectively. Peak number 4 with retention time 8.52 min conformed to pyrocatechol-glucobioside as a product of side transfer and peak number 5 with retention time 10.52 min in line with the retention time of arbutin were pyrocatechol-glucoside as a transfer product expected from the result of biotransformation.

Key words: *Solanum mammosum*, cell culture suspension, biotransformation, pyrocatechol glucoside

Abstrak

Sintesis pirokatekol glukosida dilakukan secara biotransformasi kultur suspensi sel dari kalus *Solanum mammosum* L., pada media Murashige dan Skoog (MS) yang dimodifikasi. Volume pertumbuhan maksimal sebanyak 15,5 ml kultur suspensi sel *S. mammosum* dicapai setelah hari ke-8 inkubasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pirokatekol glukosida sebagai produk biotransformasi dapat diperoleh dengan penambahan pirokatekol pada 5–20 ppm, diidentifikasi berdasarkan hasil TLC dengan nilai *R_f* 0,82–0,83. Lebih lanjut produk biotransformasi ditentukan berdasarkan HPLC yang diperoleh dari kultur suspensi sel menggunakan pirokatekol pada konsentrasi 200 ppm, sehingga dihasilkan produk hasil reaksi, berdasarkan larutan standar. Puncak nomor 1, 2 dan 3 masing-masing dengan waktu retensi 2,53 menit, 4,62 menit dan 7,58 menit, sesuai dengan waktu retensi dari selobiosa, glukosa dan metil α -glukosida. Puncak nomor 4 dengan waktu retensi 8,52 menit sesuai dengan pirokatekol-glukobiosida sebagai produk transfer sampingan, sedangkan puncak nomor 5 dengan waktu retensi 10,52 menit yang sesuai dengan waktu retensi arbutin, adalah pirokatekol-glukosida, sebagai produk transfer yang diharapkan dari hasil reaksi biotransformasi.

Kata kunci: *Solanum mammosum*, kultur suspensi sel, biotransformasi, pirokatekol glukosida

Diterima: 05 Agustus 2009, disetujui: 15 Januari 2010

Pendahuluan

Tumbuhan merupakan sumber senyawa kimia yang banyak digunakan untuk industri

farmasi. Selain itu, sel tanaman merupakan sumber enzim yang dapat digunakan untuk proses biotransformasi dalam mensintesis senyawa organik tertentu, seperti senyawa

glukosida (Hossain *et al.*, 2007; Vargas *et al.*, 2005). Suga dan Hirata (1990) menyatakan bahwa kultur suspensi sel tumbuhan mampu melakukan konjugasi glikosil suatu senyawa sehingga terbentuk senyawa glikosida dengan sifat fisika kimia dan aktivitas biologi yang lebih baik. Hal itu dibuktikan oleh Syahrani *et al.*, (1997; 1998), yang melaporkan bahwa kultur suspensi sel *Solanum mammosum* L. mampu melakukan biotransformasi terhadap salisil amida, salisil alkohol, dan asam *p*-aminobenzoat, yaitu membentuk konjugat glikosil baik secara glikosidasi maupun glikosilasi dengan konfigurasi β -glikosil yang dapat digunakan sebagai bahan obat (Syahrani *et al.*, 2005).

Pirokatekol merupakan salah satu senyawa golongan polifenol yang terdapat dalam buah-buahan dan sayuran. Senyawa ini telah dikenal memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antioksidan, antimelanogenesis, antimutagen, dan antihipertensi (Funayama *et al.*, 1993 dan 1995, Sulistyono dan Soeka, 2009). Akan tetapi, polifenol bukan golongan senyawa yang stabil terhadap pengaruh oksidasi, cahaya, dan perubahan kimia, apabila teroksidasi strukturnya akan berubah dan fungsinya sebagai bahan aktif akan menurun atau bahkan hilang (Kitao *et al.*, 1993). Oleh sebab itu, untuk meningkatkan kestabilan dan kelarutan polifenol, termasuk juga pirokatekol, dapat dilakukan dengan mengubah strukturnya dari polifenol menjadi polifenol glikosida, melalui reaksi transglikosilasi dengan metode sintesis kimia, enzimatis, dan menggunakan metode kultur sel tanaman (Kometani *et al.*, 1995).

Sintesis polifenol glikosida secara kimia dianggap sulit dan tidak ekonomis, dan akan menghasilkan produk glikosida campuran dengan konfigurasi α - dan β - (Funayama *et al.*, 1995). Biotransformasi melalui reaksi konjugasi glikosil menggunakan kultur sel tanaman merupakan metode alternatif yang dipilih dalam usaha memodifikasi senyawa organik yang ditambahkan sebagai substrat eksogen menjadi senyawa polifenol α -glikosida atau polifenol β -glikosida, tergantung dari jenis substrat yang ditambahkan, melalui reaksi enzimatis yang bersifat selektif dan spesifik, yang tidak ditemukan pada mikroorganisme (Dombrowski dan Alfermann, 1992). Melalui penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan potensi kultur

suspensi sel tanaman *S. mammosum* L. dalam mensintesis senyawa polifenol glukosida secara biotransformasi (Hakim *et al.*, 2004; Vaněk *et al.*, 2003). Tujuan penelitian ini, untuk membuktikan bahwa kultur suspensi sel *S. mammosum* L. mampu melakukan biotransformasi senyawa pirokatekol menjadi senyawa pirokatekol glukosida, sebagai bahan pendukung bagi industri farmasi, kosmetik, dan kimia alam.

Metode Penelitian

Medium Murashige dan Skoog (MS, Murashige & Skoog, 1962)

Medium MS yang dimodifikasi dengan penambahan (per liter) sukrosa 30 g, inositol 100 mg, kasein hidrolisat 1 g, kinetin 2 mg, dan asam naftalen asetat (NAA) 1 mg. Medium ditempatkan pada Erlenmeyer 100 ml masing-masing sebanyak 25 ml, disterilkan dengan autoklaf pada suhu ruang 121°C selama 30 menit. Bahan lain yang digunakan adalah kultur suspensi sel *S. mammosum* L. yang berasal dari kultur kalus *S. mammosum* L.

Kultur Suspensi Sel *S. mammosum* L.

Kultur suspensi sel dilakukan dengan memasukkan \pm 3 g kalus ke dalam Erlenmeyer yang berisi 25 ml medium MS yang dimodifikasi dengan penambahan sukrosa 30 g/l, inositol 100 mg/l, kasein hidrolisat 1 g/l, hormon NAA 1 mg/l dan Kinetin 2 mg/l, kemudian *shaker* pada kecepatan 120 rpm di bawah sinar lampu TL (20 watt) secara terus menerus pada suhu ruang $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Subkultur dilakukan setelah 7 sampai 10 hari pada medium yang sama (Nugroho dan Sugito, 1996).

Analisis Laju Pertumbuhan Kultur Suspensi Sel *S. mammosum* L.

Di dalam *laminar air flow*, suspensi sel dituang ke tabung sentrifus 50 ml kemudian diukur volumenya masing-masing 3,5 ml atau sebanyak 3 g massa sel. Selanjutnya, suspensi sel dimasukkan ke dalam 10 buah labu Erlenmeyer yang telah berisi 25 ml medium. Labu-labu diletakkan pada *shaker* di bawah sinar lampu TL secara terus menerus pada suhu ruang $25 \pm 1^\circ\text{C}$, kemudian dilakukan pengamatan warna suspensi sel secara visual dan volume

suspensi sel setiap dua hari sekali sampai hari ke-14.

Uji Toksisitas Pirokatekol terhadap Kultur Suspensi Sel *S. mammosum* L.

Medium MS dibuat dengan penambahan senyawa pirokatekol dalam berbagai konsentrasi (50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 600, 800, 1000, dan 1500 ppm). Di dalam *laminar air flow* kultur suspensi sel dituang ke dalam tabung sentrifus 50 ml kemudian diukur volume suspensinya masing-masing 3,5 ml atau sebanyak 3 g suspensi sel dimasukkan ke dalam 25 ml erlenmeyer yang telah berisi 25 ml medium dengan berbagai konsentrasi pirokatekol di bawah sinar lampu TL secara terus menerus pada suhu ruang $25 \pm 1^\circ\text{C}$, agar sel dapat tumbuh dan meregenerasi dengan cepat. Warna suspensi dan volume sel diamati guna mengetahui adanya pertumbuhan dan regenerasi sel pada hari ke-8.

Biotransformasi Pirokatekol Glukosida Melalui Kultur Suspensi Sel *S. mammosum* L

Ke dalam medium ditambahkan senyawa pirokatekol pada konsentrasi yang sesuai dengan hasil uji toksisitas. Di dalam *laminar air flow*, suspensi sel di tuang ke dalam tabung sentrifus 50 ml kemudian diukur volumenya masing-masing 3,5 ml atau sebanyak 3 g dan setelah disentrifus pada $8000 \times g$ pada 4°C selama 10 menit suspensi sel dimasukkan ke dalam 25 ml buah erlenmeyer yang telah berisi 25 ml medium dengan konsentrasi pirokatekol 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, dan 600 ppm. Kemudian seluruh erlenmeyer diletakkan pada *shaker* di bawah sinar lampu TL 20 watt pada 80rpm, agar sel dapat terus tumbuh dan berkembang secara terus menerus pada suhu ruang $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sampai dengan hari ke-8. Kultur di panen, suspensi sel disaring, dibilas dengan akuades, dan dikeringkan di dalam lemari pengering.

Uji Kualitatif dan Kuantitatif Produk Biotransformasi

Massa sel yang diperoleh dari hasil biotransformasi dikeringkan pada lemari pengering pada suhu 40°C . Setelah kering massa sel digerus halus dan diayak. Serbuk ditimbang $\pm 0,1$ g, diekstrak dengan cara dimasukkan ke dalam vial, kemudian diletakkan dalam penggetar ultrasonik dengan pelarut metanol

selama 15 menit, dan digojog menggunakan vortex selama 10 menit. Filtrat disaring dan selanjutnya sisa penyaringan diekstrak kembali sebanyak lima kali ulangan. Ekstrak dikumpulkan dan dipekatkan dengan evaporator. Ekstrak kental yang diperoleh diidentifikasi dengan KLT (kromatografi lapis tipis), sebagai pengembang digunakan pelarut campuran etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10). Standar produk yang digunakan mengandung selobiosa, glukosa, metil- α -glukosida, dan arbutin masing-masing 1% (b/v). Selanjutnya, hasil KLT dideteksi menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm.

Tahap akhir untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa produk yang dihasilkan, dilakukan uji kualitatif terhadap kedelapan sampel uji menggunakan KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). Ekstrak yang menunjukkan uji positif dengan KLT, disaring dengan penyaring *millipore* 0,22 μm , dengan volume sampel yang diinjeksikan sebanyak 5 μl . Uji KCKT dilakukan dengan menggunakan kolom Shim-pack Pico Tag, 70% asetonitril sebagai fase gerak, laju alir sampel sebesar 0,8 ml/menit, dan sebagai detektor digunakan UV pada panjang gelombang 220 nm.

Hasil dan Pembahasan

Hasil kultur pada medium MS memperlihatkan pertumbuhan kultur suspensi sel yang baik (Gambar 1).

Keistimewaan medium MS adalah kandungan nitrat, kalium, dan amoniumnya yang tinggi, sehingga layak untuk memenuhi berbagai jenis sel tanaman dalam kultur (Wetter dan Constabel, 1991), mengandung NAA dan kinetin yang termasuk dalam kelompok auksin sintetik sebagai zat pengatur tumbuh yang berfungsi untuk mendorong perpanjangan sel dan pembelahan sel, sedangkan kinetin yang termasuk dalam kelompok sitokinin dibutuhkan bersama-sama dengan NAA untuk pemanjangan sel.

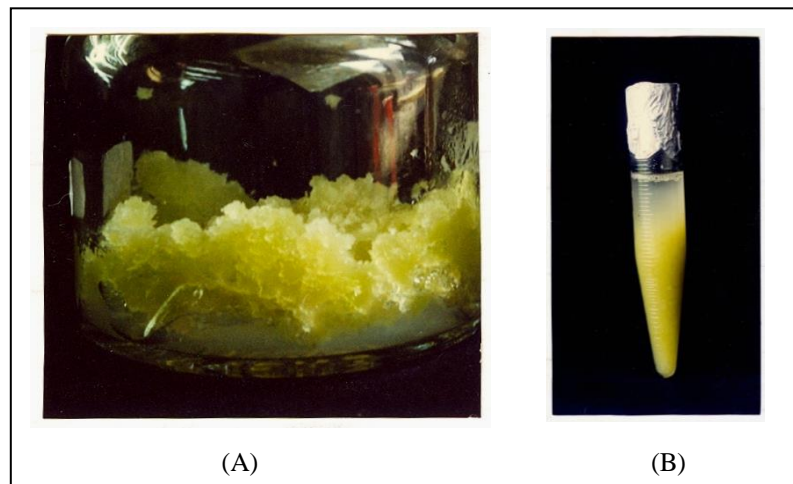
Analisis Laju Pertumbuhan Kultur Suspensi Sel *S. mammosum* L.

Tahap selanjutnya setelah kultur ialah menentukan kondisi optimum yang diperlukan

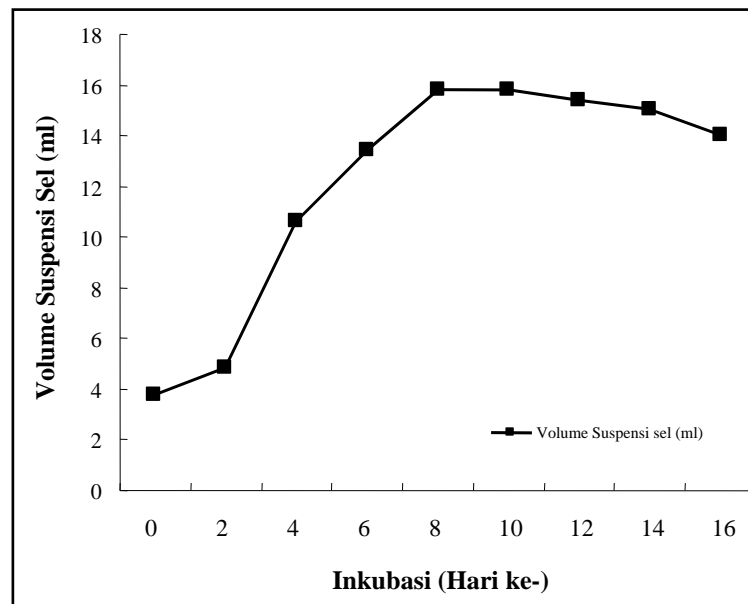
untuk pertumbuhan kultur suspensi sel *S. mammosum* L. Untuk menentukan kondisi optimum digunakan suspensi sel *S. mammosum* yang telah disubkultur dua kali, dengan pengocok ± 120 rpm dan suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Analisis laju pertumbuhan dilakukan dengan mengukur kenaikan volume suspensi sel setiap dua hari. Pengamatan ini sesuai dengan pernyataan Petersen dan Alfermann (1993) dalam Syahrani (1998) bahwa suatu pertumbuhan kultur suspensi sel dikatakan baik apabila pembelahan sel terjadi setiap dua hari sebanyak 3,0–3,5ml suspensi sel.

Berdasarkan hasil analisis dapat dilihat pada Gambar 2, diketahui bahwa pertumbuhan

kultur suspensi sel terus meningkat, dan dari hasil pengukuran menunjukkan bahwa kondisi optimum untuk pertumbuhan kultur suspensi sel *S. mammosum* diperoleh pada hari ke-8 dengan volume 15,5 ml, hampir mencapai lima kali volume suspensi sel hari ke nol yaitu 3,5 ml. Pada hari ke-12 volume suspensi sel berangsur-angsur menurun, turunnya volume suspensi sel dapat disebabkan oleh kandungan nutrisi dalam medium semakin berkurang. Setelah diperoleh kondisi optimum pertumbuhan kultur suspensi sel, dilakukan uji toksisitas senyawa pirokatekol terhadap kultur suspensi sel.



Gambar 1. Kalus (A) dan kultur suspensi sel (B) *Solanum mammosom* L.



Gambar 2. Laju pertumbuhan kultur suspensi sel *S. mammosum* L.

Uji Toksisitas Pirokatekol Terhadap Kultur Suspensi Sel *S. mammosum* L.

Uji toksisitas pirokatekol dilakukan dengan cara menambahkan pirokatekol ke dalam medium pada berbagai konsentrasi, membuktikan kemampuan kultur suspensi sel *S. mammosum* L. terhadap pirokatekol sebagai senyawa asing dan untuk mengetahui kadar pirokatekol maksimum yang aman serta tidak berpengaruh negatif terhadap kultur.

Pengamatan toksisitas pirokatekol terhadap kultur suspensi sel dapat dilihat dari perubahan warna suspensi sel dan volumenya. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa pirokatekol dengan konsentrasi lebih besar dari 600 ppm menyebabkan sel-sel pada kultur suspensi mati dan berwarna hitam, sehingga pengukuran volume suspensi sel dilakukan pada kultur dengan konsentrasi pirokatekol mulai 50–600 ppm. Pengukuran volume dilakukan pada hari ke-8 yaitu pada saat pertumbuhan kultur suspensi sel mencapai jumlah maksimum (Science Project, 2001).

Dari hasil pengamatan yang telah dilakukan (Gambar 3) dapat diketahui bahwa pada konsentrasi 250–600 ppm sel-sel masih bertahan hidup, suspensi sel masih terlihat berwarna hijau tetapi tidak menunjukkan pertumbuhan, terbukti dari volume suspensi sel yang relatif tetap, meskipun mengalami penurunan volume suspensi sel jika dibandingkan konsentrasi 0–200 ppm, sehingga pada konsentrasi dibawah 250 ppm, masih terlihat adanya pertumbuhan yang ditunjukkan dengan bertambahnya volume suspensi sel dengan warna suspensi sel yang masih tetap berwarna kehijauan (Gambar 1B).

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa volume suspensi sel tanpa penambahan pirokatekol mencapai 12 ml, dengan konsentrasi pirokatekol yang sangat kecil (50 ppm) volume suspensi sel mencapai 9 ml, sedangkan pada konsentrasi yang paling besar (600 ppm) mencapai 3,3 ml, lebih kecil dari volume suspensi sel semula yaitu 3,5 ml. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi pirokatekol berpengaruh terhadap pertumbuhan suspensi sel. Konsentrasi pirokatekol yang tinggi memiliki tingkat toksisitas yang tinggi pula. Tanpa pirokatekol suspensi sel tumbuh dengan baik

sehingga diperoleh volume suspensi sel yang tinggi, sedangkan dengan konsentrasi pirokatekol yang semakin tinggi volume suspensi sel semakin berkurang.

Kemampuan Biotransformasi Kultur Suspensi Sel *S. mammosum* L.

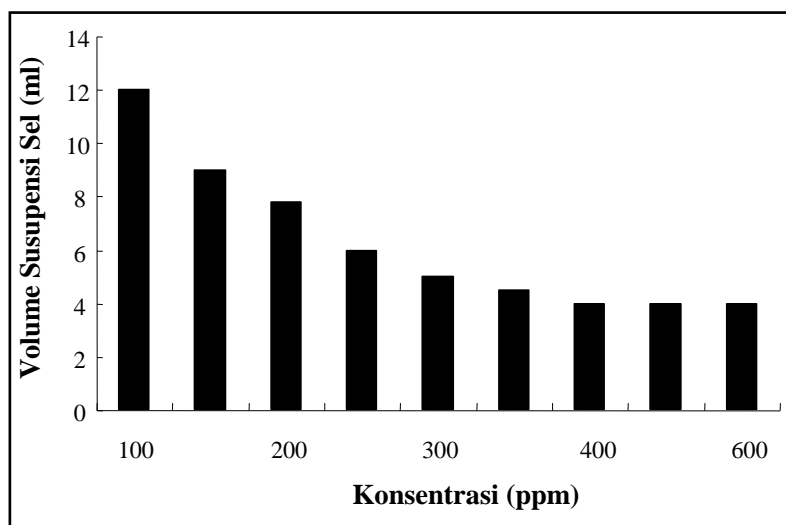
Berdasarkan hasil uji toksisitas, biotransformasi menggunakan pirokatekol dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, dan 600 ppm, bertujuan mengetahui konsentrasi pirokatekol yang tepat dalam menghasilkan produk biotransformasi yang baik.

Pada proses biotransformasi, terjadi reaksi glukosidasi oleh aktivitas glukosiltransferase suspensi *S. mammosum* L., yaitu reaksi antara gugus hidroksil gula (glikon) yang berikatan dan atom oksigen dari gugus hidroksil pirokatekol yang merupakan komponen non gula (aglikon) membentuk ikatan glukosida. Dalam hal ini terdapat dua kemungkinan ikatan glukosida, yaitu ikatan α atau β .

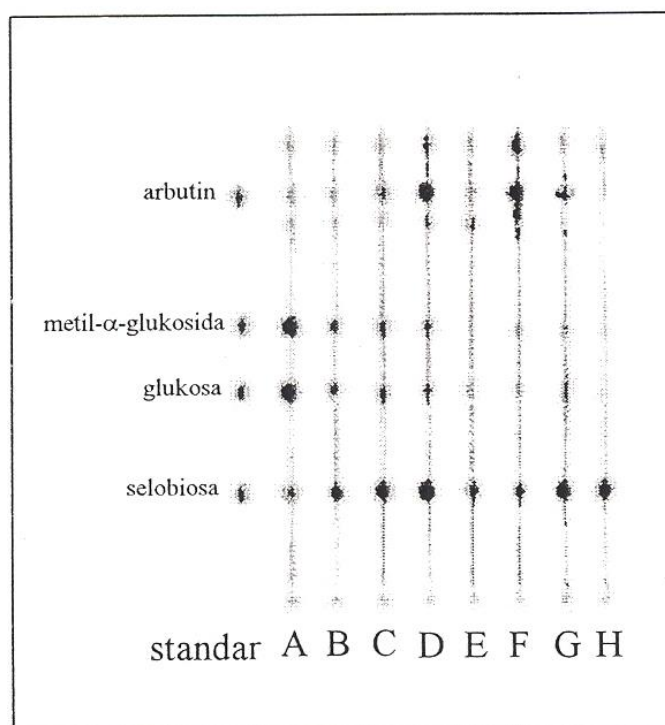
Dalam proses biotransformasi tersebut selain melibatkan enzim yang terkandung dalam sel tumbuhan (intraseluler), reaksi juga terjadi karena adanya komponen gula dan non-gula sebagai substrat eksogen yang ditambahkan ke dalam kultur suspensi sel. Yokoyama *et al.*, (1990) dalam penelitiannya membuktikan bahwa sukrosa atau glukosa juga dapat meningkatkan produk hasil biotransformasi hidrokinon sebagai substrat eksogen yang ditambahkan dengan kultur suspensi sel *Catharanthus roseus*.

Identifikasi Produk Biotransformasi

Produk biotransformasi yang diidentifikasi dengan KLT, menunjukkan adanya noda yang memiliki nilai R_f sama dengan standar arbutin (Gambar 4) mulai dari konsentrasi produk 50–600 ppm. Fase diam yang digunakan dalam KLT adalah silika gel yang bersifat polar, sedangkan fase gerak adalah larutan pengembang, terdiri atas etil asetat : metanol : air (100 : 13,5 : 10). Hasil menunjukkan bahwa senyawa yang bersifat kurang polar akan terbawa oleh fase gerak sehingga memiliki nilai R_f besar, sedangkan senyawa yang bersifat polar akan tertahan sehingga memiliki nilai R_f lebih rendah. Nilai-nilai R_f dari noda yang dihasilkan pada kromatogram Gambar 4 dapat disajikan pada Tabel 1.



Gambar 3. Hasil uji toksisitas pirokatekol terhadap kultur suspensi sel *S. mammosum* L.



Gambar 4. Kromatogram hasil biotransformasi dari berbagai konsentrasi pirokatekol.

(A–G) dengan menggunakan KLT. (A) 50 ppm; (B) 100 ppm; (C) 150 ppm; (D) 200 ppm; (E) 250 ppm; (F) 300 ppm; (G) 400 ppm; (H) 600 ppm.

Tabel 1. Nilai Rf produk biotransformasi menggunakan KLT.

Konsentrasi (ppm)	Nilai Rf	Produk Reaksi	Intensitas Noda
Larutan Standar	0,38	selobiosa	+++
	0,52	glukosa	+++
	0,63	metil- α -glukosida	+++
	0,82	Arbutin (hidrokinon glukosida)	+++
Pirokatekol - 50	0,37	selobiosa	+++
	0,50	glukosa	+++
	0,63	metil- α -glukosida	++++
	*	pirokatekol glukobiosida	+
	*	pirokatekol glukosida	+
	*	pirokatekol	+
Pirokatekol - 100	0,37	selobiosa	++
	0,51	glukosa	++
	0,62	metil- α -glukosida	++
	0,72	pirokatekol glukobiosida	+
	0,82	pirokatekol glukosida	+
	*	pirokatekol	+
Pirokatekol - 150	0,36	selobiosa	+++
	0,51	glukosa	++
	0,69	metil- α -glukosida	++
	0,70	pirokatekol glukobiosida	+
	0,83	pirokatekol glukosida	++
	0,88	pirokatekol	+
Pirokatekol - 200	0,36	selobiosa	++++
	0,52	glukosa	+++
	0,62	metil- α -glukosida	+++
	0,71	pirokatekol glukobiosida	+++
	0,82	pirokatekol glukosida	++++
	0,88	pirokatekol	+++
Pirokatekol - 250	0,36	selobiosa	+++
	*	glukosa	+
	0,71	pirokatekol glukobiosida	++
	0,82	pirokatekol glukosida	++
	0,88	pirokatekol	++
Pirokatekol - 300	0,36	selobiosa	+++
	*	glukosa	+
	*	metil- α -glukosida	+
	*	pirokatekol glukobiosida	+++
	0,82	pirokatekol glukosida	++
	0,88	pirokatekol	+++
Pirokatekol - 400	0,37	selobiosa	++++
	*	glukosa	++++
	*	metil- α -glukosida	+
	*	pirokatekol glukobiosida	+
	0,82	pirokatekol glukosida	+++
	0,88	pirokatekol	+
Pirokatekol - 600	0,37	selobiosa	+++
	*	glukosa	+
	*	metil- α -glukosida	+
	*	pirokatekol	+

(*) Nilai Rf tidak dapat diukur

(+) spot tipis, (++) spot sedang, (+++) spot tebal, (++++) spot sangat tebal

Hasil identifikasi dengan KLT menunjukkan bahwa dari delapan konsentrasi produk biotransformasi, ada tujuh konsentrasi pirokatekol (50–400 ppm) yang dapat disintesis secara biotransformasi menggunakan kultur suspensi sel membentuk senyawa pirokatekol glukosida, yang ditandai dengan terbentuknya noda-noda dengan nilai Rf 0,82 dan 0,83 yang mendekati nilai Rf standar (arbutin) sebesar 0,82. Nilai Rf pirokatekol bebas (0,88) membuktikan bahwa pirokatekol glukosida memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi. Selain nilai Rf dari noda produk biotransformasi, pada kromatogram terdapat noda-noda lain yang nilai Rfnya mendekati nilai Rf komponen-komponen yang terdapat dalam standar, hal ini menunjukkan bahwa di dalam produk biotransformasi terdapat produk sampingan. Produk sampingan tersebut antara lain: selobiosa, glukosa, metil- α -glukosida, dan pirokatekol glukobiosa yang ditandai oleh munculnya noda di bawah noda pirokatekol glukosida.

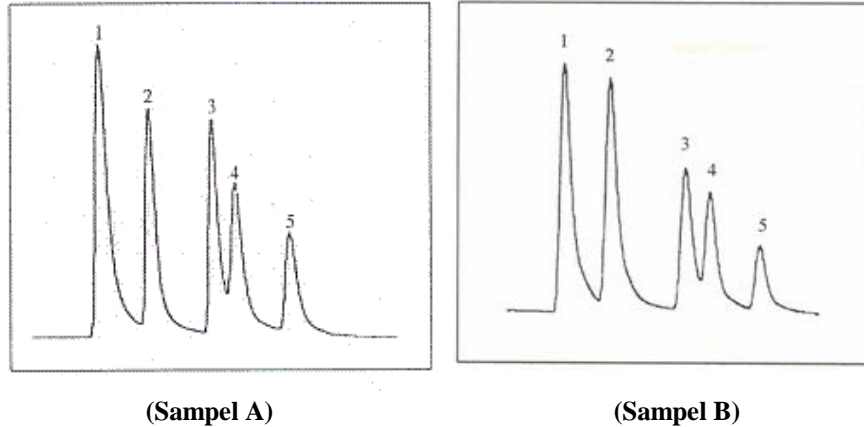
Identifikasi tiap komponen dalam sampel dilakukan dengan membandingkan antara waktu retensi standar, sebagai salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui komponen dalam sampel menggunakan KCKT. Produk biotransformasi yang diidentifikasi menggunakan KCKT adalah produk biotransformasi dari pirokatekol dengan konsentrasi 200 dan 400 ppm (Gambar 5). Hal tersebut dilakukan berdasarkan hasil identifikasi menggunakan KLT yang menunjukkan bahwa produk biotransformasi dengan konsentrasi pirokatekol 200 ppm mengandung komponen-komponen yang terdapat dalam standar dengan intensitas noda yang baik, sedangkan pirokatekol dengan

konsentrasi 400 ppm merupakan konsentrasi maksimum pirokatekol yang menghasilkan produk biotransformasi.

Pada Gambar 5 sampel A produk biotransformasi menghasilkan lima puncak dengan waktu retensi dan luas area yang berbeda dibandingkan Gambar 5, sampel B, yang dapat dibandingkan dengan waktu retensi pada standar (Tabel 1). Puncak nomor 1 memiliki waktu retensi 2,53 menit menunjukkan komponen selobiosa, nomor 2 memiliki waktu retensi 4,62 menit menunjukkan komponen glukosa, nomor 3 dengan waktu retensi 7,58 menit menunjukkan komponen metil- α -glukosida. Puncak nomor 4 merupakan produk transfer (2) yaitu pirokatekol glukobiosa dengan waktu retensi 8,52 menit, sedangkan nomor 5 adalah produk transfer (1) yaitu pirokatekol glukosida yang waktu retensinya adalah 10,52 menit hampir sama dengan waktu retensi arbutin. Produk transfer (1) merupakan komponen yang diharapkan dari hasil biotransformasi. Komponen hasil biotransformasi sampel B dengan konsentrasi pirokatekol 400 ppm sama dengan komponen hasil biotransformasi sampel A dengan konsentrasi pirokatekol 200 ppm, tetapi luas area masing-masing puncak pada sampel B lebih kecil dari luas area tiap-tiap puncak sampel A. Perbedaan luas area menunjukkan konsentrasi komponen dalam sampel, luas area yang lebih kecil menunjukkan konsentrasi yang lebih kecil, jadi konsentrasi produk transfer (1) yaitu pirokatekol glukosida pada sampel B lebih kecil dari konsentrasi produk transfer (1) yang terdapat dalam sampel A. Kromatogram standar (selobiosa, glukosa, metil- α -glukosida, dan arbutin) hasil KCKT dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Waktu retensi larutan standar dan sampel.

No. Puncak	Waktu Retensi (menit)	Luas Puncak	Standar / Produk
6	2,55	1204229	Selobiosa
7	4,55	1182730	Glukosa
8	7,55	552114	Metil- α -glukosida
9	10,53	301704	Arbutin
10	2,53	1870943	selobiosa
11	4,62	1466866	glukosa
14	7,58	1141289	metil- α -glukosida
15	8,52	914493	pirokatekol glukobiosa
16	10,52	642108	pirokatekol glukosida



(Sampel A) **(Sampel B)**
Gambar 5. Kromatogram hasil biotransformasi sampel A (pirokatekol 200 ppm) dan Sampel B (pirokatekol 400 ppm). (1) selobiosa; (2) glukosa; (3) metil- α -glukosida; (4) produk transfer 2 : pirokatekol glukobiosida; (5) Produk transfer 1: pirokatekol glukosida.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Kultur suspensi sel *S. mammosum* L. mampu melakukan biotransformasi pirokatekol menjadi pirokatekol glukosida pada konsentrasi maksimum sebesar 400 ppm. Pirokatekol glukosida dapat disintesis tanpa menyebabkan toksisitas dan produk sampingan antara lain terdiri dari selobiosa, glukosa, metil- α -glukosida, dan pirokatekol glukobiosida.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji aktivitas pirokatekol glukosida yang dihasilkan melalui proses biotransformasi menggunakan kultur suspensi sel *S. mammosum* sebagai senyawa antioksidan, antimikroba, dan antimutagenesis.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Geise Arisandi, S.Si dan Prof. Dr. H. A. Syahrani, M Apt. atas bantuannya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik, serta Proyek RUT-KMNRT atas kontribusi dana yang diberikan, sehingga penelitian dapat berjalan dengan lancar.

Daftar Pustaka

- Dombrowski, K. dan Alfermann, A.W. 1992. Biotransformation of Salicylic Acid Derivatives by Plant Cell Suspension Cultures, *Planta Medica*, 58: A576–A577.
- Funayama, M., Nishino, T., Hirota, A.A., Murao, S., Takenishi, S. dan Nakano, H. 1993. Enzymatic Synthesis of (+) Catechin- α -glucoside and its Effect on Tyrosinase Activity. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58 (50): 817–821.
- Funayama, M., Arakawa, H., Yamamoto, R., Nishino, T., Shin, T. dan Murao, S. 1995. Effect of α - and β -Arbutin on Activity of Tyrosinase from Mushroom and Mouse Melanoma. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59 (1): 143–144.
- Hakim, E., Achmad, H., Sjamsul, A., Aimi, N., Indrayanto, G., Kitajima, M., Makmur, L., Lukman, Surya, M.D., Syah, Y.M. dan Takayama, H. 2004. Regioselective Glucosylation of Oxyresveratrol by Cell Suspension Cultures of *Solanum mammosum*. *J. of Chemical Research*, 10 (2): 706–707.
- Hossain, M.J., Rahman, M. dan Bari, M.A. 2007. Establishment of Cell Suspension Culture and Plantlet Regeneration of Brinjal (*Solanum melongena* L). *J. of Plant Sciences*, 2 (4): 407–415.
- Kitao, S., Ariga, T., Matsudo, T. dan Sekine, H. 1993. The Synthesis of Catechin Glucosides by Transglycosilation with *Leuconostoc Mesenteroides* Sucrose Phosphorylase. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 57 (12): 2010–2015.

- Kometami, T., Tanimoto, H., Takii, H., Nishimura, T., Terada, Y. dan Okada, S. 1995. Synthesis of 3,4-dimethoxyphenyl β -D-glucofuranoside and its Related Glycoside by Cultured Plant Cells. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 59 (6): 1007–1011.
- Krstulovic, A.M. dan Brown, P.R. 1982. *Reversed Phase High Performance liquid Chromatography*. A Wiley Interscience Publication, New York.
- Murashige, T. dan Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473–497.
- Nugroho, A. dan Sugito, H. 1996. *Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan*. Penabur Swadaya, Jakarta.
- Science Project. 2001. *Catechol Oxidase- A study of Inhibition*. <http://www.Science-Projects.com/tyrosinase.htm>. 09/03/2001.
- Suga, T. dan Hirata, T. 1990. Biotransformation of Exogenous Substrates by Plant Cell Cultures, *Phytochemistry*, 29 (8): 2393–2406.
- Sulistyo, J. dan Soeka, Y.S. 2009. Aktivitas Antimutagen Isoflavon Glikosida Hasil Transglikosilasi Enzimatik CGT-ase *Bacillus macerans*. *Biota*, 14 (1): 28–36.
- Syahrani, A., Indrayanto, G., Sutarjadi dan Wilkins, A. 1997. Bioconversion of Salicylamide by Cell Suspension Culture of *Solanum mammosum L*. *Chem. Pharm. Bull.*, 45 (3): 555–557.
- Syahrani, A., Widjaja, I., Indrayanto, G. dan Wilkins, A.L. 1998. Glucosylation of Salicyl Alcohol by Cell Suspension Cultures of *Solanum Laciniatum*. *JANPR*, 1: 111–117.
- Syahrani, A., Widjaja, I., Indrayanto, G. dan Wilkins, A.L. 1999. Biotransformation of *o*- and *p*-Amino benzoic Acid by Cell Suspension Cultures of *Solanum mammosum*. *Phytochemistry*, 5: 615–620.
- Syahrani, A., Palup, Tini, Triyanti, Untari, F., Himmah, Faiqatul, Ebel, R. dan Indrayanto, G. 2005. Glucosylation of *p*- and *m*-Hydroxyphenols by Plant Cell Suspension Cultures of *Solanum Mammosum*. *Malaysian J. of Pharmaceutical Sciences*, 3 (1): 35–44.
- Vaněk, T., Novotný, M., Podlipná, R., Šaman, D. dan Valterová, I. 2003. Biotransformation of Citronellal by *Solanum aviculare* Suspension Cultures: Preparation of *p*-Menthane-3,8-diols and Determination of Their Absolute Configurations. *J. Nat. Prod.*, 66 (9): 1239–1241.
- Vargas, T.E., De García, E. dan Oropeza, M. 2005. Somatic Embryogenesis in *Solanum Tuberosum* from Cell Suspension Cultures: Histological Analysis and Extracellular Protein Patterns. *J. Plant Physiol*, 162 (4): 449–456.
- Wetter, L.R. dan Constabel, F. 1991. *Metode Kultur Jaringan Tanaman*. Edisi ke-2. Penerbit ITB, Bandung.
- Yokoyama, M., Inomata, S., Seto, S. dan Yanag, M. 1990. Effect of Sugar on the Glucosylation of Exogenous Hydroquinone by *Cataranthus roseus* Cells in Suspension Culture. *Plant Cell Physiol.*, 31 (4): 551–555.