

FLAVAN-3-OL IN VITRO CULTURE CAMELLIA SINENSIS CONTRIBUTIONS IN ORDER SUPPORT FUNCTIONAL FOOD

Sutini¹, Susilowati², Mochamad Rasjad Indra³

¹ Program Studi Agrotechnology UPN "Veteran" Jawa Timur.

² Program Studi Teknik Kimia UPN "Veteran" Jawa Timur.

³ Jurusan Medical school physiology, Brawijaya University, Malang.
Email: tien_basuki@yahoo.com

Abstract

Flavan-3-ol act as bioactive compounds from in vitro culture of Camellia sinensis plant can support the functional food. These compounds are bioactive because of it has a chemical structure that is rich in hydroxide groups so that it can be as functional food. However, flavan-3-ol which is extracted from the fields stunted harvest wait time of up to 3-5 years. To overcome obstacles waiting time of harvesting of the land should be developed mode of production flavan-3-ol via in vitro culture. The purpose of this paper is to obtain the production of flavan-3-ol becoming more efficient. The process of production to achieve these objectives are: (1) initiation of callus, (2) sub callus, (3) the initiation of suspension culture, (4) extraction suspense culture, (3) Analysis of qualitative / quantitative compound of flavan-3-ol. Results of this study in the form of biomass culture can play a role in supporting both as a functional food additives, flavor and mix of food raw materials.

Keywords: *flavan-3-ol, Camellia sinensis, in vitro culture, functional food*

Abstrak

Flavan-3-ol bertindak sebagai senyawa bioaktif dari kultur in vitro dari tanaman *Camellia sinensis* dapat berperan sebagai makanan fungsional. Senyawa bioaktif ini memiliki struktur kimia yang kaya kelompok hidroksida sehingga dapat menjadi makanan fungsional. Namun, flavan-3-ol yang dapat diekstrak terhambat panen menunggu hingga 3-5 tahun. Untuk mengatasi kendala waktu panen maka dilakukan produksi flavan-3-ol yang dikembangkan melalui kultur in vitro. Tujuan dari makalah ini adalah untuk mendapatkan produksi flavan-3-ol menjadi lebih efisien. Proses produksi untuk mencapai tujuan tersebut adalah: (1) inisiasi kalus, (2) sub kalus, (3) inisiasi kultur suspensi, (4) budaya ketegangan ekstraksi, (3) Analisis kualitatif / kuantitatif senyawa flavan -3-ol. Hasil penelitian ini dalam bentuk biomassa dapat berperan sebagai aditif makanan fungsional, flavor dan campuran bahan baku makanan.

Kata kunci: *flavan-3-ol, Camellia sinensis, kultur in vitro, makanan fungsional*

PENDAHULUAN

Flavan-3-ol merupakan senyawa senyawa *bioaktif pada* tanaman *Camellia sinensis*. Sebagai senyawa bioaktif berperan dalam industri makanan dan industri kesehatan. Pada industri makanan dapat sebagai strategi pengatur program diet karena sifat senyawa flavan-3-ol yang dapat mengikat enzim maupun protein (Mario *et.al.*, 2012). Menurut Haslam (2007) flavan-3-ol yang memiliki monomir tanin akan menyebabkan adstringen pada

rongga mulut, hal ini dikarenakan pembentukan agregat dan pengendapan air ludah yang menyebabkan hilangnya pelumasan pada langit-langit sehingga menyebabkan sensasi adstringen.

Pada industri kesehatan memiliki multi fungsi diantaranya dapat sebagai antioksidan dan anti proliferasi sel (Tores *et.al.*, 2002). Sedangkan menurut Khan dan Mukhtar (2007) fungsi flavan -3-ol amat beragam diantaranya untuk: anti kanker, anti

diabet, anti histamin, anti obesitas dan kardiovaskuler. Penelitian Hernandez *et.al.*, 2006 flavan-3-ol pada tanaman merupakan bentukan dari monomer: - *Epicatechin* (EC) dan *-epigallocatechin gallate* (EGCG). Senyawa ini dapat diproduksi melalui kultur in vitro. Melihat pentingnya dan sifat flavan-3-ol yang telah disebutkan di atas, maka tujuan dari penulisan makalah ini adalah memperoleh cara produksi flavan-3-ol yang lebih efisien.

Kajian empiris yang dilakukan oleh ke-wang *et.al.*, (2014) bahwa green tea yang mengandung flavan-3-ol dapat menghambat kanker mamae pada tikus percobaan. Sedangkan penelitian Okello (*et.al.*, 2011) flavan -3-ol dapat mencegah kanker colon. Flavan-3-ol yang dipetik di ladang waktu panennya mencapai 3-5 tahun. Melihat pentingnya senyawa ini peneliti melakukan produksi EGCG melalui kultur in vitro kalus dapat dipanen setelah umur yang relatif singkat yaitu satu bulan (Sutini, 2010).

3.METODE PENELITIAN

Metode penelitian meliputi: (1) inisiasi kalus yang diperoleh dari eksplan daun *Camellia sinensis* dengan

media padat Murashige and Skoog (1962) (MS), (2) sub kultur kalus dengan cara memindahkan kalus pada media yang sama/ berbeda setelah kalus berumur 2 minggu, (3) inisiasi kultur suspense dengan cara menimbang kalus yang dimasukkan pada media MS cair yang diperkaya dengan zat pengatur tumbuh (ZPT) konsentrasi tertentu dengan digojog menggunakan penggojog shaker berkecepatan 100 rpm , (4) ekstraksi kultur suspense berpelarut kloroform, akuades dan etil asetat, (5) Analisis senyawa flavan-3-ol secara kualitatif /kuantitatif menggunakan teknik kromatografi lapis tipis / kromatografi densitometri. Hasil studi literatur biomassa flavan-3 ol berpeluang menunjang pangan fungsional.

1. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penulisan makalah ini diperoleh dari mereview penelitian terdahulu, dengan pembahasannya sebagai tersebut berikut.

Inisiasi kalus

Hasil pada inisiasi kalus diperoleh bobot basah seperti tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Bobot basah Kultur kalus

Perlakuan Media	Bobot basah (mg) Umur (bulan)				
	Bulan				
	0	1	2	3	4
Ms	100	150	250	750	1200
Ms + ZPT	100	500	1000	1500	2000

Pada Tabel 1. Peningkatan bobot basah kultur kalus meningkat seiring dengan penambahan umur kalus. Hal ini relevan dengan penelitian Thayamini *et.al.*, (1999) bahwa bobot kalus yang didapat dari jaringan anther *camellia sinensis* meningkat setelah umur kalus mencapai satu bulan.

Sub kultur kalus

Sub kultur kalus dilakukan pada minggu ke dua sampai minggu ke tiga untuk menggantikan nutrisi biomassa kalus agar dapat bertumbuh dengan normal.

Inisiasi kultur suspense

Hasil Inisiasi kultur suspense diperoleh bobot basah seperti tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Bobot basah Kultur suspensi

Perlakuan	Bobot basah Kultur suspense (mg) Umur (bulan)				
	bulan				
	0	1	2	3	4
ZPT+ Fa	300	550	1980	2450	2100
Fa	300	500	980	980	750

Pada Tabel 2 bobot basah kultur suspensi peningkatan hampir 6 kali pada bulan ke dua dengan perlakuan ZPT + Fa, namun bila perlakuan tidak menggunakan ZPT peningkatan berkisar 3 kali lipat. Menurut Hutami (2009) perbedaan hasil akhir pada kultur suspensi bukan hanya karena perbedaan perlakuan namun lebih disebabkan oleh sel-sel secara morfologis dan fase agregasi yang berbeda.

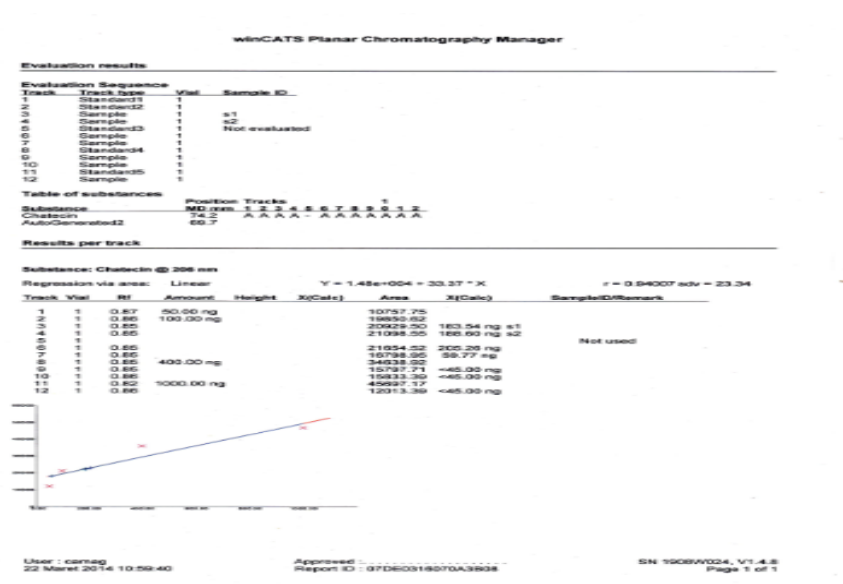
Ekstraksi kultur suspense & analisis senyawa flavan-3-ol

Ekstraksi kultur suspense dilanjutkan dengan analisis senyawa flavan-3-ol. Hasil ekstraksi berupa biomasa kultur suspensi yang memadat

selanjutnya diidentifikasi menggunakan kromatografi densitometri. Gambar 1, menunjukkan standar flavan-3-ol-catechin didapatkan hasil eluasi berupa spot-spot sampel yang berada satu garis dengan standar flavan-3-ol-catechin (Sutini *et.al.*, 2014).

Flavan-3 ol menunjang pangan fungsional

Flavan-3 ol menunjang pangan fungsional seperti yang ditulis oleh Winarno, dan Kartawidjajaputra (2007) bahwa konsumsi tiga cangkir teh per hari (berisi 80% total polifenol dan 50% EGCG) atau takaran 100-150 mg dalam dosis 3 kali sehari dapat berfungsi sebagai anti oksidan.



Gambar 1. Dengan Densitometer Camag:kromatogram sampel (garis warna biru) dan standar (garis warna merah) terletak pada satu garis lurus (Sutini *et.al.*, 2014).

Pada Gambar 1 menunjukkan letak kromatogram standar dan sampel yang berada pada satu garis lurus dengan pengamatan menggunakan densitometer camag, maka dapat disimpulkan bahwa sampel kultur in vitro mengandung senyawa flavan-3 ol yang sama dengan standar.

KESIMPULAN

Flavan-3 ol dapat diproduksi secara kultur in vitro baik melalui kalus maupun kultur suspensi yang diharapkan dapat menunjang bahan pangan fungsional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Dirjen Dikti yang telah mendukung dana Hibah kompetitif tingkat nasional sehingga penelitian berjalan dengan lancar.

PUSTAKA

- Haslam E. 2007. *Vegetable tannins – Lessons of a phytochemical lifetime*. (Online) www.elsevier.com/locate/phytochem. J. Phytochemistry 68 :2713–2721
- Hernandes I., Alegre L., Sergi MB 2006. Enhanced oxidation of flavan-3-ols and proanthocyanidin accumulation in water-stressed tea plants. (Online) www.elsevier.com/locate/phytochem. J. Phytochemistry 67:1120–1126.
- Hutami S. 2009. Tinjauan Penggunaan Suspensi Sel Kultur In Vitro. *Jurnal AgroBiogen* 5(2):84-92
- Ke-Wang L., Chun-Hay K., Grace GARY. 2014. Green tea (*Camellia sinensis*) extract inhibits both the metastasis and osteolytic components of mammary cancer 4T1 lesions in mice. (Online) www.sciencedirect.com. J. Nutritional Biochemistry 25 :395–403
- Mario G. F., Bordenave N., Bruce R. H. 2012. Does flavor impact function? Potential consequences of polyphenol–protein interactions delivery and bioactivity of flavan-3-ols from foods. (Online) [homepage:www.elsevier.com/locate/physbeh](http://www.elsevier.com/locate/physbeh). J. Physiology & Behavior: 591–597.
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol.Plant* 15: 473-497
- Naghma Khan, Hasan Mukhtar. 2007. Tea polyphenols for health promotion. On line www.sciencedirect.com. J. Life Sciences 81 : 519–533
- Okello E.J., McDougall , G.J. , Kumar S. 2011. In vitro protective effects of colon-available extract of *Camellia sinensis* (tea) against hydrogen peroxide and beta-amyloid (A_β) induced cytotoxicity in differentiated PC12 cells (Online). www.elsevier.de/phytmed. *Phytomedicine* 18: 691–696
- Sutini, 2010. Produksi Epigallocatechin Gallate Melalui Kalus *Camellia Sinensis* L, Dengan Induksi Elisitor, Cu, Asam Salisilat Dan Prekursor Fenilalanin. Disertasi. Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- Sutini, Susilowati , Mochamad R I., 2014. Pengembangan produksi flavan-3-ol melalui kultur suspensi sel *camellia sinensis* I : Untuk penghambatan diferensiasi sel adiposa. Laporan tahunan Hibah penelitian kompetensi. Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jatim.
- Thayamini, Khanika H R, Hiriburegama WK. 1999. Callus formation in anther culture of tea clone *camellia sinensis* I. J. Natc Sci. Foundation Srilangka 27: 165-175.
- Tores J L., Lozano C., Julia L. 2002.

Cysteinyl-flavan-3-ol Conjugates
from Grape Procyanidins.
*Antioxidant and Antiproliferative
Properties. J. Bioorganic &
Medicinal Chemistry 10: 2497–
2509.*

Winarno, F.G dan F. Kartawidjajaputra.
2007. Pangan Fungsional dan
Minuman Energi. M-BRIO Press.
Bogor.