

Prosiding Seminar Nasional
ADIWIDYA7
Pascasarjana

Perspektif Berbagai Bidang Ilmu dalam
Menghadapi Perkembangan Inovasi Teknologi
di Era Industri 4.0

Bandung, 1 November 2019



KATA PENGANTAR

*Bimillahirrohmanirrahim
Assalamualaikum Wr. Wb.*

Alhamdulillah segala puja dan puji syukur kami haturkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga buku Prosiding Seminar Nasional Adiwidya 7 Pascasarjana ITB ini, akhirnya berhasil diterbitkan. Prosiding ini, merupakan kumpulan makalah yang disajikan di dalam rangkaian acara *Call for Paper* (CFP) yang mengambil tema: **“Perspektif Berbagai Bidang Ilmu dalam Menghadapi Perkembangan Inovasi Teknologi di Era Industri 4.0”** yang diselenggarakan pada tanggal 01 November 2019 di Aula Sipil (AISI), kampus ITB Bandung.

CFP ini merupakan salah satu rangkaian agenda acara Adiwidya 7 yang disinergikan dengan agenda Seminar Nasional dan Diskusi Panel (Sendipa). Adiwidya merupakan suatu wadah yang dapat menjadi sarana untuk menerbitkan hasil karya mahasiswa pascasarjana dalam bentuk prosiding paper penelitian dan dapat menjadi media pencerdasan masyarakat umum terkait isu revolusi industri 4.0. Harapan kami dari Adiwidya 7 ini dapat menumbuhkan kesadaran masyarakat dunia dan masyarakat Indonesia pada khususnya mengenai revolusi industri 4.0 untuk kemajuan peradaban suatu bangsa.

Tujuan dari kegiatan ini dalam rangka, menghidupkan budaya akademisi dan literasi bagi mahasiswa, juga dengan harapan dapat meningkatkan kontribusi para mahasiswa pascasarjana dalam upaya menciptakan dan melakukan inovasi dalam bidang sains dan teknologi di era industri 4.0 ini untuk membawa Negara Kesatuan Republik Indonesia menjadi negara yang maju di kancah internasional.

Terima kasih kami ucapkan kepada seluruh penulis yang telah menyumbangkan karyanya, juga kepada seluruh panitia Adiwidya 7 KAMIL pascasarjana ITB secara umum yang sudah bekerja keras merencanakan, mempersiapkan dan melaksanakan acara seminar ini dengan penuh keikhlasan. Juga khususnya kepada tim *Call for Paper* (CFP) yang sudah bekerja keras agar naskah dapat terbit memenuhi kaidah penulisan ilmiah dan ejaan bahasa Indonesia yang disempurnakan dan dari sisi tampilan yang disajikan secara menarik.

Kami mohon maaf, jika dalam penerbitan prosiding ini terdapat kekurangan dan kekeliruan, kepada Allah kami mohon ampun. Kami berharap, semoga prosiding ini memberikan banyak manfaat untuk masyarakat.

Bandung, 20 Maret 2020
Adiwidya 7 2019,

Moh. Ali
Ketua Pelaksana




SUSUNAN DEWAN REDAKSI

Editor Kepala : Aditya Firman Ihsan
Editor Pelaksana : Jasmine Chanifah Uzdah Bachtiar
Dewan Editor : Nurul Aisyah Salman, Jessica Olifia
Asisten Editor : Baiq Ulfana Syabila, Abdurrahman Adam

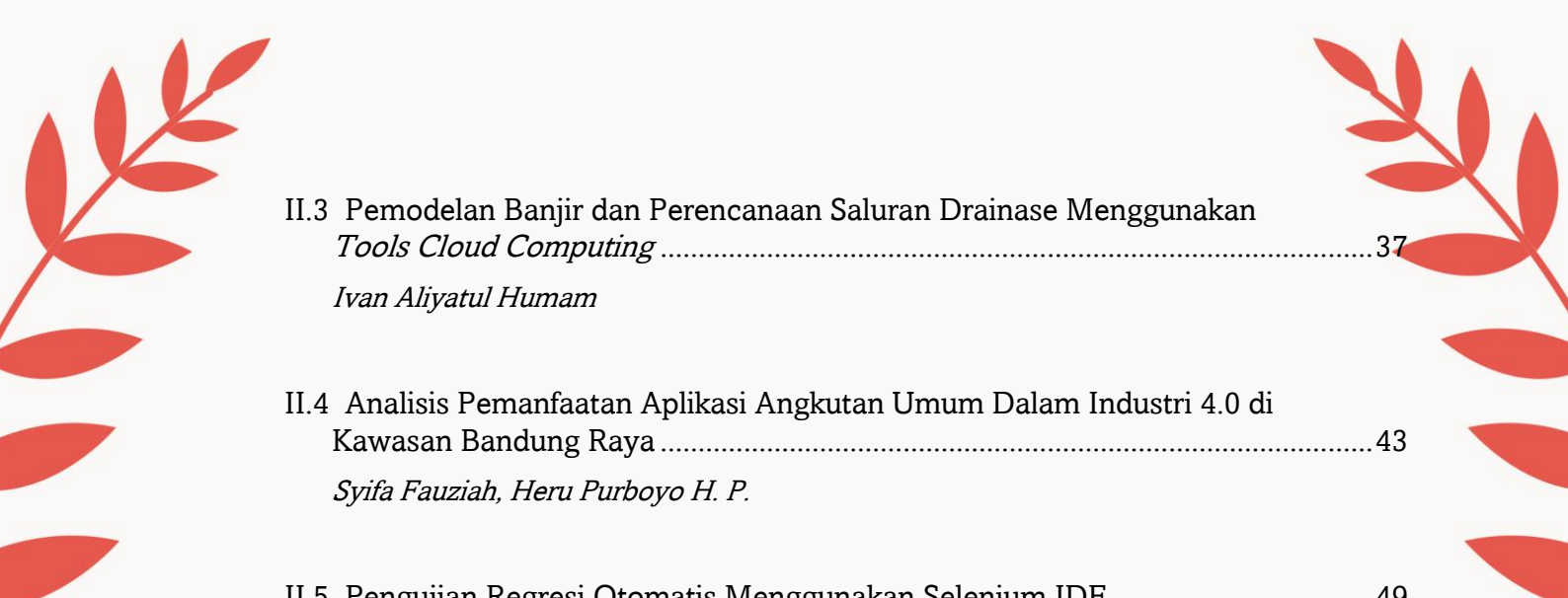
Layout : Ummi Nur Asyifah Bahmi, Putri Faradilla, Hafi Auliya Nurhayati
Desain sampul : Hesti Rosita Dwi Putri
Staf Redaksi : A. Iin Nindy Karlinda K., Arfa Izzati, Arif Efendi, Atika Rahmawati, Helfa Rahmadyani, Jehan Faradika, Nanik Aryani Putri, Togi Haidat Manggara, Zulhendra
Distribusi : Yeni Saro Manalu, Mutiara Qalbi Pebrian

Alamat Redaksi : KAMIL Pasca Sarjana ITB
Gedung Kayu lt.2, Kompleks Masjid Salman ITB, Jalan Ganesha
No.10 Bandung 40132




DAFTAR ISI

Chapter I BIOTEKNOLOGI	1
I.1 Analisis Bioinformatika interaksi Protein Tirosin Fosfatase A (PtpA) dengan Asam Lemak Trans-2-Eikosenoat	1
<i>Baiq Repika Nurul Furqan, Imam Syahputra Yamin</i>	
I.2 <i>Biorefinery</i> Industri Sawit Nasional dalam Upaya Pemanfaatan Limbah Tandan Kosong Sawit (TKS) sebagai Bahan Baku Xilitol	5
<i>Abdurrahman Adam, Shelvi Putri Ayu, Muhammad Hanief Auliya Lukman</i>	
I.3 Strategi Sintesis dan Peningkatan Kadar Zat Aktif Pada Tanaman Kumis Kucing (<i>Orthosiphon aristatus (Blume)</i> Miq. dengan Rekayasa Genetik.....	11
<i>Fahrauk Faramayuda, Sukrasno, Elfahmi</i>	
I.4 Karakterisasi Taksonomi dan Substrat Alami <i>Phythium vexans</i> Sebagai Potensi Sumber Pangan Protein	19
<i>Istikoyah, I Nyoman Pugeg Aryantha</i>	
Chapter II ELEKTRO DAN INFORMATIKA	27
II.1 Sistem Monitoring Kualitas Produksi PT. XYZ Berbasis <i>Internet of Things</i>	27
<i>Mulyani Pratiwi, Teguh Raharjo, Mochammad Aldi Kushendriawan, Kevin Chandra Abimaulana</i>	
II.2 Kecerdasan Buatan untuk Rekognisi Audio Alat Musik Berbasis <i>Ciri Mel Frequency Cepstral Coefficient</i> (MFCC)	33
<i>Sinta, Yokanan Wigar Satwika, Miranti Indar Mandasari</i>	



II.3	Pemodelan Banjir dan Perencanaan Saluran Drainase Menggunakan <i>Tools Cloud Computing</i>	37
	<i>Ivan Aliyatul Humam</i>	
II.4	Analisis Pemanfaatan Aplikasi Angkutan Umum Dalam Industri 4.0 di Kawasan Bandung Raya	43
	<i>Syifa Fauziah, Heru Purboyo H. P.</i>	
II.5	Pengujian Regresi Otomatis Menggunakan Selenium IDE.....	49
	<i>Dwi Ilham Prabowo, Hanson Prihantoro Putro</i>	
II.6	Perbandingan Filter Digital pada <i>Accelerometer</i> untuk Mengoptimalkan Pengukuran Sudut <i>Pitch</i> dan <i>Roll</i>	55
	<i>Adidin Aidin Maulana, Hendri Maja Saputra, Abdurrahman Nurhakim</i>	
Chapter III <i>SOCIAL SCIENCE</i>		63
III.1	<i>Social Impact in Digital Economic Era to Improving Coffee Production at Temanggung District</i>	63
	<i>Fajar Abdurrafi</i>	
III.2	Konseptualisasi Aplikasi Chatbot sebagai Kanal Interaksi Layanan Pemerintah di Era Industri 4.0	71
	<i>Arfive Gandhi</i>	
III.3	Masyarakat Pasca-Literasi sebagai Fenomena Baru Revolusi Digital	77
	<i>Aditya Firman Ihsan</i>	
III.4	Menyoal Tawaran Revolusi Industri 4.0 pada Interaksi Manusia dan Teknologi, Sebuah Kajian Kritis	85
	<i>Aditya Firman Ihsan, Muhammad Suryo Panotogamo Abi Suroso</i>	



Strategi Sintesis dan Peningkatan Kadar Zat Aktif Pada Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. Dengan Rekayasa Genetik (Review)

Fahrauk Faramayuda^{1,2*}, Sukrasno¹, Elfahmi¹, Totik Sri Mariani³

¹School of Pharmacy, Institut Teknologi Bandung (ITB)

²Faculty of Pharmacy Universitas Jenderal Achmad Yani (UNJANI)

³School of Life Sciences and Technology, Institut Teknologi Bandung (ITB)

ABSTRACT

Orthosiphon aristatus (Blume) Miq. is one of the long-known medicinal plants in Indonesia and is a national flagship that has been clinically tested by BPOM. *O. aristatus* have become a major export commodity to the Netherlands, Germany, France, and Japan. In 2015 Indonesia exported around 3089 tons of medicinal plants in January to March 2014 and decreased in January to March 2015 at 2682 tons. The main secondary metabolite components of *O. aristatus* are sinensetin and eupatorin. Sinensetin and eupatorin belong to the class of flavonoid compounds and when classified more specifically are polymethoxy flavon compounds produced by secretory tissues and are stored inside or outside the oil glands of plants. Polymethoxy flavones have an influence in the biochemical and physiological processes of plants, have activities as antioxidants, enzyme inhibitors, anti-allergic, anti-inflammatory, antiviral, antiproliferative, and anticarcinogenic. Until now, the biosynthesis pathway of eupatorin and sinensetin compounds has never been reported, so it is necessary to design a review of strategic steps for eupatorin synthesis and increase sinensetin levels using genetic engineering. The synthesis of eupatorin is carried out by compiling the *sf3'h1* gene isolation step and then testing the activity of the *sf3'h1* enzyme on the salvigenin substrate and to increase sinensetin levels by increasing the overexpression of the *FNSII-2* gene in *O. aristatus*.

Keywords : *O. aristatus*, Sinensetin, Eupatorin, Genetic Engineering, *sf3'h1* gene, *FNSII-2* gene

ABSTRAK

Orthosiphon aristatus (Blume) Miq. merupakan salah satu tanaman obat yang sudah lama dikenal di Indonesia dan menjadi unggulan nasional yang telah diuji klinis oleh BPOM. Simplisia kumis kucing telah menjadi komoditas ekspor yang utama ke Belanda, Jerman, Perancis, dan Jepang. Pada tahun 2015 Indonesia mengeksport tanaman obat sekitar 3089 ton pada bulan Januari sampai Maret 2014 dan menurun di bulan Januari sampai Maret 2015 yaitu 2682 ton. Komponen metabolit sekunder utama dari kumis kucing adalah sinensetin dan eupatorin. Sinensetin dan eupatorin termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid dan bila diklasifikasikan lebih khusus lagi merupakan senyawa flavon polimetoksi yang dihasilkan oleh jaringan sekretori dan disimpan di bagian dalam atau luar dari kelenjar minyak pada tumbuhan. Flavon polimetoksi memiliki pengaruh dalam proses biokimia dan fisiologi tanaman, mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, inhibitor enzim, anti alergi, antiinflamasi, antivirus, antiproliferatif, dan antikarsinogenik. Sampai saat ini Jalur biosintesis senyawa eupatorin dan sinensetin belum pernah dilaporkan, sehingga perlu dirancang review tentang langkah strategi untuk sintesis eupatorin dan meningkatkan kadar sinensetin dengan menggunakan rekayasa genetik. Untuk sintesis eupatorin dilakukan dengan menyusun langkah isolasi gen *sf3'h1* lalu diuji aktivitas enzim *sf3'h1* pada substrat salvigenin dan untuk meningkatkan kadar sinensetin dilakukan dengan cara meningkatkan overekspresi gen *FNSII-2* pada tanaman kumis kucing.

Kata Kunci : Kumis Kucing, Sinensetin, Eupatorin, Rekayasa Genetik, gen *sf3'h1*, gen *FNSII-2*

Kontak Penulis :

Fahrauk Faramayuda

Mahasiswa Program Pascasarjana Sekolah Farmasi ITB

Jalan Ganesha No. 10 Bandung

Tel : (022) 6629821 Fax : (022) 6631581

E-mail: ramayuda_f@yahoo.com

1. Pendahuluan

Tanaman obat tradisional semakin banyak digunakan oleh masyarakat karena masyarakat semakin sadar mengenai pengobatan yang alami sehingga meningkatkan penggunaan obat tradisional. Sejak tahun 2005, obat-obatan alami di Indonesia ini dibagi menjadi tiga kategori yaitu obat tradisional berdasarkan empiris (jamu), obat herbal terstandar (OHT) dan fitofarmaka. Perbedaannya antara kategori-kategori ini adalah jamu bisa dipasarkan hanya berdasarkan data empiris atau pengalaman masyarakat, tetapi OHT harus didasarkan pada data uji pra klinis (farmakologi dan toksikologi) dan bahan bakunya harus distandarisasi. Produk fitofarmaka adalah kategori tertinggi, karena hanya bisa dipasarkan setelah melewati uji preklinis dan klinis (Kardono *et al.*, 2003 dan Pramono, 2007). Menurut Ditjenbinfarkemkes (2009), komoditas tanaman obat yang unggul di pasar nasional adalah temulawak, kumis kucing, cabe jawa, artemisia, dan sambiloto.

Tanaman kumis kucing telah secara luas digunakan secara tradisional untuk mengobati beberapa penyakit dan kondisi seperti diuretik, rematik, sakit perut, peradangan pada ginjal dan kandung kemih, edema, asam urat, dan hipertensi (Ashraf *et al.*, 2018 dan Eisai, 1995). Daun kumis kucing menunjukkan aktivitas farmakologis yang sangat baik seperti antioksidan, antibakteri, hepatoprotektif, anti-inflamasi, sitotoksik, antihipertensi, dan vasodilatasi (Ashraf *et al.*, 2018) Banyak Farmakope seperti Perancis, Indonesia, Belanda, dan Swiss telah mendaftarkan tanaman ini untuk perawatan yang berkaitan dengan pembersihan dan gangguan yang terkait fungsi ginjal meliputi nefritis dan urethritis, Beberapa Negara Eropa menggunakan ekstrak daun kumis kucing sebagai peluruh batu ginjal, mengatasi gangguan pada kandung kemih dan kantong empedu. Tanaman kumis kucing ini juga bisa digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol dan tekanan darah (Tezuka *et al.*, 2000). Varietas kumis kucing yang tumbuh di Indonesia adalah kumis kucing berbunga putih, berbunga ungu, dan berbunga putih corak ungu. Kumis kucing yang paling banyak tumbuh adalah varietas ungu dan putih corak ungu, namun yang paling banyak digunakan untuk pengobatan adalah kumis kucing yang putih corak ungu (Trisilawati, 2004).

Kandungan metabolit sekunder pada tanaman kumis kucing mengandung sejumlah besar flavonoid, polifenol glikosida, minyak atsiri, dan kalium dalam jumlah besar. Isolasi senyawa fenolik dari tanaman ini telah dilakukan diantaranya flavon lipofilik, glikosida flavonol, dan turunan asam kafeat seperti asam

rosmarinat, 2,3-dicaffeoyltartaric acid dan sinensetin, 30-hydroxy-5,6,7,40-tetramethoxyflavone, 5,6-dihidroksi-7,40-dimethoxyflavone, eupatorin (Ashraf *et al.*, 2018). Kandungan metabolit sekunder utama pada kumis kucing adalah sinensetin, asam rosmarinat dan eupatorin. Pada tahun 2018 Cai melaporkan bahwa kadar sinensetin pada daun kumis kucing 2.719 mg/g, kadar asam rosmarinat pada daun 19.861 mg/g dan kadar eupatorin pada daun 4.731 mg/g. Kadar metabolit sekunder utama pada kumis kucing tersebut masih kecil sehingga perlu upaya untuk meningkatkan kadarnya salah satunya melalui rekayasa genetika.

Perkembangan ilmu pengetahuan yang sangat cepat dalam berbagai disiplin ilmu pada dasarnya dipengaruhi oleh peradaban manusia. Teknologi merupakan dampak yang ditimbulkan dari pengembangan ilmu pengetahuan di era globalisasi. Salah satu bentuk ilmu pengetahuan dan teknologi yang berkembang saat ini adalah bioteknologi. Pengembangan pada ranah bioteknologi sudah diterapkan sejak jaman dahulu, sekalipun tidak bisa dipastikan apakah penerapan bioteknologi tersebut secara sadar atau tidak sadar dan apakah proses tersebut diketahui secara kebetulan atau berdasarkan percobaan intuitif.

Pengembangan bioteknologi selanjutnya merupakan contoh dari kemampuan menggunakan suatu mikroorganisme guna memenuhi kebutuhannya. Gagasan ataupun ide baru akan mengiringi pengembangan dalam berbagai aspek kehidupan, seperti rekayasa genetika pada tumbuhan guna mencapai tujuan tertentu.

Pemakaian Tradisional Tanaman Kumis Kucing

Kumis kucing di Asia Tenggara, digunakan secara luas untuk mengobati penyakit rheumatoid, diabetes, hipertensi, radang amandel, epilepsi, gangguan menstruasi, gonore, sifilis, gangguan pada ginjal, batu empedu, lithiasis, edema, demam, hepatitis, dan penyakit kuning (Ameer *et al.*, 2012). Daunnya diperkenalkan ke Eropa dan Jepang sebagai teh kesehatan. Kumis kucing sangat terkenal akan efek diuretiknya, yang lebih kuat daripada kebanyakan diuretik alami lainnya.

Untuk infeksi saluran kemih diobati dengan rebusan daun segar yang diminum dua kali sehari. Rebusan daun kering sering digunakan untuk pengobatan disuria. Seluruh tanaman baik kering atau segar digunakan untuk mengobati batu ginjal oleh praktisi pengobatan tradisional (Muslihah, 2007). Masyarakat di negara Filipina juga mengolah rebusan daun kumis kucing untuk menghilangkan asam urat (De Padua L.S dkk., 1987). Ranting muda dan daun kumis kucing

digunakan untuk pengobatan sakit punggung di Negara Malaysia (Chai, 2006).

Tanaman kumis kucing digunakan secara tradisional di daerah Jawa untuk pengobatan hipertensi dan diabetes. Dalam pengobatan tradisional juga digunakan untuk obat kelainan kandung kemih dan ginjal, batu empedu, encok dan reumatik. Tanaman kumis kucing juga dinyatakan mempunyai efek diuretic (Barnes J dkk., 2007). Bagian kumis kucing yang paling umum digunakan sebagai bahan obat-obatan adalah daunnya, baik dalam bentuk daun basah (segar) maupun kering (simplisia). Secara tradisional kumis kucing dapat digunakan sebagai obat untuk peluruh air seni (diuretik), menghancurkan batu ginjal, encok, infeksi ginjal, infeksi kandung kemih, kencing batu, dan menghilangkan panas (Hartati, 2011).

Studi Fitokimia

Analisis Kualitatif Senyawa Pada Kumis Kucing

Pada tahun 2019 Zili Guo dan tim melakukan penelitian Analisis kualitatif dan kuantitatif pada unsur kimia dalam *Orthosiphon stamineus* Benth. menggunakan *Ultra high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry* (UHPLC-ESI-QTOF-MS). Hasilnya Sebanyak 61 senyawa terdeteksi dalam mode ionisasi positif dan negative, 52 struktur kimianya dapat diidentifikasi secara jelas sehingga dapat memberikan data rujukan untuk pemisahan yang efisien dan identifikasi metabolit sekunder di tanaman lain dari genus yang sama. Struktur kimia yang berhasil teridentifikasi adalah 26 senyawa termasuk golongan asam fenolik, 11 senyawa golongan flavonoid, 6 senyawa golongan diterpen, 4 senyawa golongan asam lemak dan 5 senyawa tanshinones. Antara senyawa-senyawa tersebut, danshensu, asam kafeat, asam rosmarinat, sinensetin, dan eupatorin merupakan komponen metabolit sekunder yang utama (Guo *et al.*, 2019)

Sementara ada 9 senyawa yang berhasil dipisahkan tetapi belum berhasil untuk diidentifikasi, perlu studi lebih lanjut dengan membandingkan data spektrum dan pola fragmentasi dengan literatur. Data lengkap kandungan fitokimia dari kumis kucing ditampilkan pada table II.2. Dari penelitian Zili Guo dan tim (2019) dilaporkan pula senyawa - senyawa yang belum pernah dipublikasikan pada penelitian atau review sebelumnya tentang tanaman kumis kucing (Ameer *et al.*, 2012 ; Adnyana *et al.*, 2013 ; Ashraf *et al.*, 2018 dan Gimbut *et al.*, 2018). Adapun senyawa - senyawa yang baru dilaporkan tersebut adalah 3 senyawa flavonoid yaitu 3',4',5,7-tetrahidroksi-3',4',5 tribenzoat, isorhamnetin-

3-O-hexoside dan derivat sinensetin. 15 senyawa fenolik yaitu *protocatechuic acid methyl ester*, isomer asam kafeat, *protocatechuic acid pentoside*, *protocatechuic acid derivative*, cleroden F, asam orthosiphonic A, Cleroden I, asam yunnaneic D / isomer, Cleroden J, dimer asam rosmarinat, asam salvianolic E, asam salvianolic A, Cleroden D, N-feruloyltyramine dan *Caffeic acid tetramer*. 4 senyawa asam lemak asam dihidroksi-octadekaenoik, asam dihidroksi-octadecadienoik, asam hidroksi-octadekatrienoik, asam hidroksi-octadekadienoik. Hasil penelitian Hossain dan Mizanur Rahman, 2015 melaporkan satu senyawa flavonoid yang berhasil diisolasi untuk pertama kalinya yaitu 5,6,7,30-tetrametoksi-40-hidroksi-8-C-prenilflavon dimana senyawa tersebut belum tercantum pada *review* dan penelitian tentang kumis kucing sebelumnya.

Metabolit Sekunder Utama Pada Kumis Kucing

Komponen metabolit sekunder utama dari kumis kucing adalah sinensetin, eupatorin, dan asam rosmarinat (Gimbut, 2019). Sinensetin dan eupatorin termasuk ke dalam golongan senyawa flavonoid dan bila diklasifikasikan lebih khusus lagi merupakan senyawa flavon polimetoksi yang dihasilkan oleh jaringan sekretori dan disimpan di bagian dalam atau luar dari kelenjar minyak pada tumbuhan. Senyawa flavon polimetoksi memiliki beberapa aktivitas farmakologis baik secara *in vitro* dan *in vivo* serta merupakan bagian dari mekanisme pertahanan kimia tanaman (Berim and Gang, 2016).

Flavon polimetoksi memiliki pengaruh dalam proses biokimia dan fisiologi tanaman, mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, inhibitor enzim, anti alergi, antiinflamasi, antivirus, antiproliferasi, dan antikarsinogenik. Sinensetin adalah flavon polimetoksi yang sangat penting serta produk alami bioaktif yang memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antibakteri, antijamur, antitumor, antikanker dan mengurangi rasa nyeri (Hossain and Ismail, 2016). Eupatorin memiliki aktivitas farmakologi penginduksi apoptosis, vasodilator, antiinflamasi, inhibitor P450 dan antineoplastik (National Center for Biotechnology Information. PubChem Database, 2019).

Biosintesis Metabolit Sekunder Utama Pada Kumis Kucing

Sinensetin dan eupatorin merupakan golongan senyawa flavon polimetoksi. Biosintesis senyawa flavon polimetoksi (sinensetin dan eupatorin) dimulai dari pembentukan kerangka dasar flavonoid adalah struktur C6-C3-C6 yang dibentuk oleh kondensasi bertahap dari prekursor fenilpropenil-CoA, sebagian besar p-coumaroyl-CoA dengan tiga unit malonil-KoA,

masing-masing mengalami dekarboksilasi, dan melalui siklisasi dari rantai poliketida untuk membentuk cincin phloroglucinol. Senyawa induk bisiklik dengan struktur C6-C3-C6 ini disebut kalkon, dan *polyketide synthase* tipe III yang mengkatalisasi langkah pertama yang dilakukan dari biosintesis flavonoid ini disebut *chalcone synthase* (Abe and Morita, 2010 ; Winkel, 2006) Untuk menghasilkan dasar fenilkromana trisiklik yang khas untuk sebagian besar flavonoid, kalkon selanjutnya ditransformasikan oleh kalkon isomerase (Ferrer *et al.*, 2008). Berdasarkan modifikasi pada struktur kerangka fenilkromana ini, flavonoid dibagi lagi menjadi beberapa kelompok, seperti flavanon, flavonol, dihidroflavonol, flavon, isoflavon, anthocyanin, dan lain – lain. Flavon berbeda dari flavonol dengan tidak adanya gugus hidroksil pada posisi 3 dari ring C. Namun flavon bukan zat antara dalam proses pembentukan flavonol dan dibentuk melalui cabang terpisah dari jaringan biosintesis flavonoid yang lebih besar.

Keanekaragaman dari flavon terjadi karena adanya modifikasi substituen pada struktur utama flavon.

Modifikasi ini menyebabkan sifat kimia yang berbeda dari masing-masing flavon. Konjugasi dengan sakarida, yaitu, glikosilasi membuat molekul lebih hidrofilik. Modifikasi lain, seperti prenilasi atau metilasi, membuat molekul lebih lipofilik.

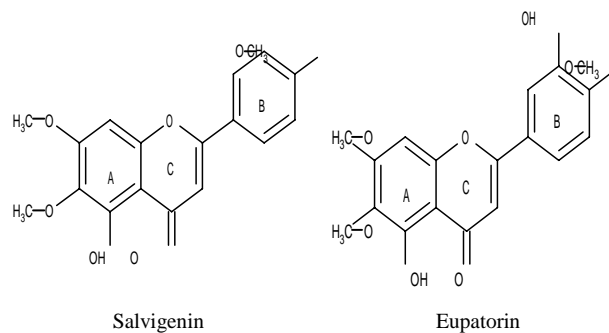
Flavon polimetoksi adalah senyawa dengan empat atau lebih gugus metoksi. Karena masih terbatasnya studi biosintesis flavon polimetoksi, maka biosintesis senyawa flavon polimetoksi pada suatu tumbuhan yang sudah diketahui bisa merepresentasikan atau menjadi bahan studi untuk senyawa flavon polimetoksi pada tumbuhan lainnya. Pada tahun 2016 Berim melaporkan biosintesis senyawa flavon polimetoksi dalam *Ocimum basilicum* , laporan ini memberikan sistem yang ideal untuk mempelajari biosintesis flavon polimetoksi. Tahap pertama, kation metiltransferase independen (ObFOMT1-6) yang mengkatalisis regioselektif 6-, 7-, dan 4-O-metilasi diidentifikasi (Berim and Gang, 2013).

2. Metoda

Pencarian literatur online dan offline dilakukan untuk menyusun artikel ini. PubMed (Medline), Web of Science, untuk data *coding region* gen didapatkan dari *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) dan desain primer menggunakan digunakan Primer Blast NCBI. Pencarian publikasi online-menggunakan istilah pencarian berikut: kumis kucing, Jamu, pengobatan tradisional, aktivitas farmakologi, kandungan metabolit sekunder, fitokimia *Orthosiphon aristatus*, *Orthosiphon stamineus*, rekayasa genetik, gen *sf3'h1*, gen FNSII-2.

3. Strategi Sintesis Eupatorin Dengan Menggunakan Rekayasa Genetik

Eupatorin merupakan flavon polimetoksi yang mempunyai gugus metoksi pada C6, C7 dan C4' serta gugus hidroksi pada C5 dan C3'. Sampai saat ini Jalur biosintesis senyawa eupatorin belum pernah dilaporkan, sehingga pada bahasan kali ini akan mencoba merencanakan strategi sintesis eupatorin dengan menggunakan rekayasa genetik. Sebagai substrat digunakan salvigenin (flavon polimetoksi) yang mempunyai gugus metoksi pada C6, C7 dan C4' serta gugus hidroksi pada C5 (Gambar 1). Selanjutnya perlu dicari enzim yang bisa mentransfer gugus OH pada C 3' salvigenin. Berdasarkan hasil penelitian Toda *et al* tahun 2012 ada enzim yang berpotensi untuk mengtransfer gugus OH pada C3' flavonoid yaitu flavonoid 3'- hydroxylase (F3'H) yang berhasil diisolasi dari soybean dimana gen pengkode untuk enzim tersebut adalah flavonoid 3'- hydroxylase (F3'H) gen (*sf3'h1*).



Gambar 1. Struktur Senyawa Flavonoid Polimetoksi (Salvigenin dan Eupatorin)

Konstruksi c-DNA

Strategi pengklonan gen dimulai dari suatu upaya mengisolasi suatu fragmen DNA/gen dari suatu cDNA. *pustaka cDNA* merupakan kumpulan potongan DNA sebagai duplikat dari suatu populasi mRNA sehingga hanya terdiri dari populasi sekuens DNA aktif pengkode protein. Langkah – langkah untuk membuat Konstruksi cDNA Isolasi RNA total dari jaringan tanaman kumis kucing selanjutnya Pemurnian mRNA dan sintesis cDNA. Pemurnian mRNA dari RNA total. Di dalam sel tanaman terdapat 3 macam RNA, yaitu: mRNA, rRNA, dan tRNA. Diantara ketiga jenis RNA tersebut hanya mRNA yang digunakan sebagai cetakan dalam pembentukan protein. Salah satu teknik yang dapat digunakan untuk mengisolasi mRNA dari RNA total adalah dengan menggunakan “Oligo(dT) Cellulose Column Chromatography” dari Pharmacia (Anwar, 1999:). Dengan teknik tersebut, mRNA (pada sebagian besar mRNA eukaryot membawa segmen

DNA poli A) akan ditangkap oleh oligo (dT). Seperti dalam aturan pasangan basa, maka basa Adenin (A) akan berikatan dengan Timin (T).

mRNA yang berhasil ditangkap tersebut kemudian dimurnikan lagi dari molekul-molekul lain yang masih tercampur selama proses isolasi dengan menggunakan teknik pengendapan. mRNA yang dihasilkan merupakan kumpulan berbagai jenis mRNA hasil transkripsi dari seluruh gen yang terekspresi pada saat isolasi dilakukan.

Sintesis cDNA dengan menggunakan cetakan mRNA yang sudah murni (transkripsi balik) dapat dilakukan dengan teknik RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain reaction).

Desain primer gen *sf3'h1*

Identifikasi adanya fragmen gen *sf3'h1* dapat dilakukan dengan teknik PCR. Pada proses amplifikasi fragmen gen diperlukan suatu komponen yang disebut primer. Primer berfungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi. Setiap satu fragmen target, memerlukan sepasang primer yang sesuai dengan DNA target. Dalam melakukan desain primer ada beberapa kriteria untuk mendapatkan primer yang optimal diantaranya spesifisitas, panjang primer 18-30 bp, kandungan %GC sekitar 40-60%, suhu leleh (T_m) optimal berkisar 52-58°C atau adanya kedekatan nilai T_m , peniadaan basa Timin (T) pada 3'-end, primer bukan komplemennya sehingga mencegah *self-annealing/ dimmers* dan *mispriming*, suhu disosiasi primer pada pasangan PCR kira-kira sama (Abd-Elsalam, 2003; McPherson *et al.*, 2001; Dieffenbach *et al.*, 1993). Sekuen gen *sf3'h1* (NCBI Reference Sequence: NC_038242.1) yang diperoleh pada situs www.ncbi.nlm.nih.gov digunakan sebagai *template* dalam mendesain sepasang primer.

Kandidat pasangan primer *forward* dan *reverse* yang terbaik adalah dimana memenuhi dari kriteria-kriteria desain primer diantaranya spesifisitas, dengan asumsi semakin panjang bp primer maka nilai spesifisitas primer semakin tinggi namun akan meningkatkan besarnya suhu T_m . Pada pasangan primer *forward* F : TGGTAGAACGACATTAGGAATAGGA dengan primer *reverse* R : CCTATCTCGACCCACAACGG memenuhi kriteria panjang, suhu T_m yang sama, kandungan%GC.

Konstruksi vektor ekspresi, ekspresi dalam sel ragi, dan uji enzim

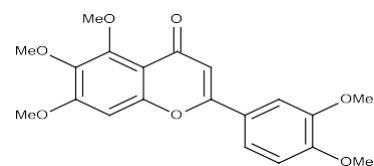
Kloning *sf3'h1* cDNA dalam vektor pT7Blue (Merck) dan tambahkan SacI dan XbaI. *sf3'h1* bermutasi dalam vektor cDNA pCR 2.1 (Invitrogen) yang diklon dari

kultivar To7G yang telah ditambahkan enzim restriksi EcoRI. Fragmen-fragmen ini kemudian dikloning ke sisi aktif yang sesuai dari vektor ekspresi ragi pYES2 (Invitrogen). Salvigenin digunakan sebagai substrat untuk Flavonoid 3'-hydroxylase (F3'H) (Toda *et al.*, 2012).

Peningkatan Kadar Sinensetin Dengan Meningkatkan Ekspresi Gen Flavone Synthase II

Sinensetin adalah golongan senyawa flavon polimetoksi yang sampai saat ini jalur biosintesisnya belum diketahui, namun biosintesis senyawa flavon yang merupakan struktur dasar dari sinensetin sudah diketahui. Dari jalur biosintesis flavon tersebut dapat diidentifikasi enzim yang berperan pada mengkatalisis terbentuknya flavon dari flavanon, enzim tersebut adalah Flavone Synthase II (FNS II). Sampai saat ini belum ada laporan tentang peningkatan kadar sinensetin dengan rekayasa genetika. Pada bahasan kali ini akan dijelaskan bagaimana strategi untuk meningkatkan kadar sinensetin yang mempunyai kerangka dasar flavon dengan teknik meningkatkan ekspresi gen FNSII-2 dengan perantara *Agrobacterium*. Gen FNSII-2 diisolasi dari *Glycine max* dan berasal data yang diperoleh dari National Biotechnology Information (NCBI) Sekuens m-RNA dari gen FNSII-2 adalah

GAGAAGGAAATCAAA[G]GAAGAGGGTTGTGA
dan
sekuens protein
EELRRKSKEEGCEDG[G]DEKVKDFLDILLDV
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/100784036>).



Gambar 2. Struktur Sinensetin

Langkah – langkah meningkatkan overekspresi dari Gen FNSII-2 dengan dimediasi oleh *Agrobacterium* adalah :

- Induksi bibit tanaman (planlet) dari kumis kucing dengan metoda kultur jaringan tanaman dengan menggunakan media dan zat pengatur tumbuh yang sesuai misalnya Media MS dengan zat pengatur tumbuh BAP + NAA
- Membuat *cosnstruct genetic* antara Gen FNSII-2 – pB121 (Plasmid) yang selanjutnya ditransformasikan kepada beberapa strains dari *Agrobacterium*. *cosnstruct genetic* ini memiliki vektor ekspresi biner tanaman pBI121 yang

menyimpan gen FNSII-2 bersama dengan promotor CaMV35S dan terminal nopaline synthase.

- c. Transformasi *Agrobacterium* ke dalam tanaman dan perkembangan tanaman transgenik, Pada laminar air flow eksplan (tunas planlet kumis kucing) berumur 24 hari dipotong dengan skalpel dengan ukuran 0,5-1 cm. Setelah itu, eksplan direndam dalam suspensi bakteri ($OD_{600} = 0,5$) pada 15 ml erlenmeyer yang mengandung 1 ml media inokulasi dalam berbagai waktu (5, 10, 15, 20 menit) pada inkubator dengan suhu 28 °C dan kocok dengan kecepatan 180 rpm.
- d. Analisis PCR dari Tanaman Transgenik
Ekstraksi DNA genom total dari daun muda tanaman transgenik dan non-transgenik dilakukan dengan menggunakan Qiagen kit (DNeasy Plant Mini Kit, 69104). Untuk membuktikan keberadaan gen FNSII-2 pada tanaman transgenik, DNA genom terisolasi digunakan untuk PCR dengan primer spesifik. Desain primer spesifik dari gen FNSII-2 menggunakan software Primer-Blast. Desain primer terbaik unyuk aplikasi gen FNSII-2 ada pada pasangan primer dengan forward primer GCGCTTTTGAGGCTTTCCAA dan reverse primer CTTTGTGAGTGAGTGTAGTTTTCT.
- e. *Southern blotting*
Southern blotting analysis dilakukan untuk membuktikan integrasi lebih lanjut dari gen FNSII-2 ke dalam genom dalam beberapa tanaman transgenik yang dipilih secara acak (PCR-positif). Integrasi DNA genom total dilakukan oleh EcoRI, dengan sisi pembatasan tunggal di wilayah T-DNA. satu pita diantisipasi untuk setiap integrasi T-DNA.
- f. *Real-time qPCR analysis*
Analisis Real-time qPCR dilakukan untuk mendeteksi tingkat ekspresi gen FNSII-2 di tanaman transgenik dibandingkan dengan tanaman nontransgenik. Integrasi T-DNA tunggal menyebabkan tingkat ekspresi gen pada tanaman. Selain itu, beberapa integrasi T-DNA dapat meningkatkan efisiensi transformasi sekaligus menurunkan ekspresi gen (Jaganatha Chetty *et al.*, 2012) Efek T-DNA pada ekspresi transgenik sangat kompleks. Secara umum, diharapkan bahwa peningkatan salinan gen dapat menyebabkan peningkatan ekspresi gen; Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa beberapa salinan gen dapat menekan atau menghambat aktivitas dari gen (Vaucheret *et al.*, 1999) .Beberapa penelitian menunjukkan bahwa salah satu salinan transgenik juga dapat menghambat ekspresi gen (Elmayan dan Vaucheret, 1996).
- g. Ekstraksi tanaman dan analisis kadar sinensetin dengan HPLC

Ekstraksi dengan cara maserasi dilakukan pada tanaman transgenik dan non transgenik. Selanjutnya dilakukan analisis kadar sinensetin dengan menggunakan instrumen HPLC. Harapan dari analisis ini adalah kadar sinensetin pada tanaman transgenik lebih besar daripada tanaman non transgenik.

- h. Analisis kuantitatif Peningkatan Kadar Sinensetin
Pada tahun 2018 Cai dan tim melaporkan hasil penelitian kadar sinensetin 0,057 mg / g, kadar senyawa tersebut masih kecil maka dengan meningkatkan ekspresi gen FNSII-2 dalam tanaman kumis kucing melalui perantara *Agrobacterium* diharapkan dapat meningkatkan kadar sinensetin. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan dengan teknik *combinatorial biosynthesis* dapat meningkatkan metabolit sekunder, diantaranya penyisipan gen TPS2 dengan perantara *Agrobacterium* dapat meningkatkan senyawa thymol pada tanaman *Trachyspermum ammi* (Nomani *et al.*, 2019)

4. Kesimpulan

Berdasarkan analisis dan tahapan yang sudah dirancang perlu dilakukan penelitian sintesis eupatorin dengan menggunakan substrat salvigenin dengan penyisipan gen *sf3'h1* pada vektor ekspresi dan peningkatan kadar sinensetin pada tanaman kumis kucing dengan menyisipkan gen FNSII-2 pada *Agrobacterium* dimana dasarnya adalah *combinatorial biosynthesis*. Produksi bahan obat dengan teknik rekayasa genetika dapat mendorong terwujudnya Indonesia mandiri bahan baku obat, tentunya dengan dukungan berbagai pihak seperti akademisi, pemerintah dan industri obat.

Ucapan Terima Kasih

Staff dan Peneliti laboratorium bioteknologi gedung riset inovasi Institut Teknologi Bandung, dalam saran dan arahan dalam penyusunan makalah.

Daftar Pustaka

- Abd-Elsalam, K.A. (2003). Bioinformatic Tools and Guideline for PCR Primer Design. *African Journal of Biotechnology*, Vol 2(5). Pp 91-95.
- Abe, I., and Morita, H. (2010): Structure and function of the chalcone synthase superfamily of plant type III polyketide synthases, (i), 809–838. <https://doi.org/10.1039/b909988n>
- Adnyana, I. K., Setiawan, F., and Insanu, M. (2013): From Ethnopharmacology To Clinical Study Of Orthosiphon Stamineus Benth, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3).
- Ameer, O. Z., Salman, I. M., Asmawi, M. Z.,

- Ibraheem, Z. O., and Yam, M. F. (2012): *Orthosiphon stamineus*: Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology, *Journal of Medicinal Food*, **15**(8), 678–690. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.1973>
- Anwar, S. 1999. Pengklonan Gen-gen yang Diinduksi oleh Aluminium pada Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill). Disertasi. IPB. Bogor
- Ashraf, K., Sultan, S., and Adam, A. (2018): *Orthosiphon stamineus* Benth. is an Outstanding Food Medicine: Review of Phytochemical and Pharmacological Activities, *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, **10**(3), 109–118. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_253_17
- Barnes, J Anderson, LA Phillipson, J. (2007): *Herbal Medicines Third Edition*, Pharmaceutical Press., London.
- Berim, A., and Gang, D. R. (2013): The roles of a flavone-6-hydroxylase and 7-o-demethylation in the flavone biosynthetic network of sweet basil, *Journal of Biological Chemistry*, **288**(3), 1795–1805. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.420448>
- Berim, A., and Gang, D. R. (June 1, 2016): Methoxylated flavones: occurrence, importance, biosynthesis, *Phytochemistry Reviews*, Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s11101-015-9426-0>
- Cai, X., Xiao, C., Xue, H., Xiong, H., Hang, Y., Xu, J., and Lu, Y. (2018): Original research A comparative study of the antioxidant and intestinal protective effects of extracts from different parts of Java tea (*Orthosiphon stamineus*), (November 2017), 579–584. <https://doi.org/10.1002/fsn3.584>
- Chai, P. P. K. (2006): *Medicinal plants of Sarawak*, Paul Chai P.K., Malaysia.
- De Padua, L.S., Lugod, G.C., Pancho, J.V. (1987): *Handbook on Philippine Medicinal Plants* (Vol.3), University of Philippines, Los Banos.
- Ditjenbinfarkemkes (2009): *Tanaman obat dan obat tradisional* (2nd ed.), 5–6 Jakarta.
- Eisai (1995): *Medicinal herb index in Indonesia = indeks tumbuh-tumbuhan obat di Indonesia* (2nd ed.), University Press:Godjah, Mada, [Jakarta], 239.
- Elmayan, T., Vaucheret, H., 1996. Expression of single copies of a strongly expressed 35stransgene can be silenced post-transcriptionally. *Plant J.* **9**, 787–797.
- Ferrer, J., Austin, M. B., Jr, C. S., and Noel, J. P. (2008): Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids, **46**, 356–370. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.12.009>
- Gimbun, J., Pang, S. F., and Yusoff, M. M. (2018): *Orthosiphon stamineus* (Java Tea), *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*, Elsevier Inc., 327–333. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812491-8.00047-3>
- Guo, Z., Liang, X., and Xie, Y. (2019): Qualitative and quantitative analysis on the chemical constituents in *Orthosiphon stamineus* Benth. using ultra high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **164**, 135–147. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.10.023>
- Hartati, S. (2011): *Tanaman Berkhasiat Obat*, IPB Press, Bogor.
- Hossain, M. Amzad, and Mizanur Rahman, S. M. (2015): Isolation and characterisation of flavonoids from the leaves of medicinal plant *Orthosiphon stamineus*, *Arabian Journal of Chemistry*, **8**(2), 218–221. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.06.016>
- Hossain, M. A., and Ismail, Z. (2016): Quantification and enrichment of sinensetin in the leaves of *Orthosiphon stamineus*, *Arabian Journal of Chemistry*, **9**, S1338–S1341. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.02.016>
- Jaganatha Chetty, V., Ceballos, N., Garcia, D., Narváez-Vásquez, J., Lopez, W., and Orozco-Cardenas, M. (2012): Evaluation of Four *Agrobacterium tumefaciens* Strains for the Genetic Transformation of Tomato (*Solanum lycopersicum* L) Cultivar Microtom., *Plant Cell Reports*, **32**. <https://doi.org/10.1007/s00299-012-1358-1>
- Kardono, L. B. S., Artanti, N., Dewiyanti, I. D., Basuki, T., and Padmawainata, K. (2003): *Selected Indonesian Medicinal Plants*.
- Muslihah, F. (2007): *Tanaman Obat Keluarga* (2nd ed.), Penebar Swadaya, Jakarta.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Database (2019): Eupatorin, CID=97214, retrieved from internet: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/97214> (accessed on Apr. 20, 2019).
- Nomani, M., Ahmad, S., Noori, S., Tohidfar, M., and Ramshini, H. (2019): Industrial Crops & Products Overexpression of TPS2 gene to increase thymol content using *Agrobacterium tumefaciens* -mediated transformation in *Trachyspermum ammi* (Qom ecotype), *Industrial Crops & Products*, **130**(July 2018), 63–70.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.076>

National Center for Biotechnology Information.

PubChem Database (2019): Eupatorin, CID=97214, retrieved from internet: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/97214> (accessed on Apr. 20, 2019)

Pramono, S. (2007): Jamu in Indonesia daily life and industry, Institute of Natural Medicine University of Toyama, 26.

Tezuka, Y., Tampoulis, P. S., Anskota, A. H. B., Wale, S. A., and Ran, Q. T. (2000): Constituents of the Vietnamese Medicinal Plant *Orthosiphon stamineus*, *Chem. Pharm. Bull.*, (December), 1711–1719. <https://doi.org/10.1248/cpb.48.171>

Toda, K., Kuroiwa, H., Senthil, K., Shimada, N., Aoki, T., Ayabe, S., Shimada, S., Sakuta, M., Miyazaki, Y., and Takahashi, R. (2012): The soybean F3'H protein is localized to the tonoplast in the seed coat hilum, *Planta*, **236**, 79–89. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1590-5>

Trisilawati, O. (2004): RESPON TIGA KLON KUMIS KUCING (*Orthosiphon aristatus*) TERHADAP MIKORIZA ARBUSKULA Octivia Trisilawati MAc-1 MAc-2, 18–26.

Vaucheret, H., Béclin, C., Elmayan, T., Feuerbach, F., Godon, C., Morel, J.-B., Mourrain, P., Palauqui, J.-C., and Vernhettes, S. (1999): Transgene-induced gene silencing in plants, *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, **16**, 651–659. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.1998.00337.x>

Winkel, B. (2006): *The biosynthesis of flavonoids*. In: *Grotewold E (ed) Science of flavonoids*, Springer, Berlin, 71–95.