

ARTIKEL TINJAUAN : PERKEMBANGAN BIOTEKNOLOGI DALAM PRODUKSI KOLKISIN FARMASETIS

Anggita Putri Unggaran, Tina Rostinawati

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung, Sumedang Km. 21 Jatinangor 45363 Telp./Fax. (022) 779 6200

*anggitaputriunggaran@gmail.com

ABSTRAK

Kolkisin merupakan alkaloid utama yang terkandung dalam tanaman *Colchicum autumnale* dan *Gloriosa superba* L. Senyawa kolkisin memiliki beberapa khasiat terapeutik, di antaranya sebagai antimitotik, anti-inflamasi dan antifibrotik. Kebutuhan pasar yang tinggi akan suplai kolkisin mendorong berbagai penelitian untuk menemukan metode yang paling efisien guna meningkatkan produksi kolkisin. Budidaya konvensional tidak mampu mencukupi kebutuhan yang tinggi akan produk metabolit kolkisin, sementara sintesis kimia tidak dapat menjadi solusi yang tepat karena sulitnya mensintesis senyawa metabolit sekunder dengan struktur kimia yang kompleks. Solusi yang paling tepat untuk meningkatkan produksi kolkisin adalah kultur sel tanaman secara *in vitro*. Namun metode ini pun masih memiliki beberapa keterbatasan sehingga perlu dioptimalkan. Artikel ini meninjau delapan strategi untuk optimalisasi kultur sel, di antaranya elisitasi, *product removal in situ*, imobilisasi kultur sel tanaman, suspensi kultur sel tanaman dalam bioreaktor, demetilasi kolkisin dengan bantuan mikroba, mikrotuberisasi, kultur biorhizoma dengan bantuan enzim khusus, dan kultur biorhizoma dalam bioreaktor. Berdasarkan hasil tinjauan, dapat disimpulkan bahwa mikrotuberisasi, kultur biorhizoma dengan bantuan enzim khusus, dan kultur biorhizoma menggunakan bioreaktor merupakan strategi yang tengah banyak dikembangkan saat ini dan dinilai efisien untuk produksi kolkisin secara komersil.

Kata Kunci: kolkisin, kultur sel tanaman, biorhizoma, bioreaktor

ABSTRACT

Colchicine is a major alkaloid contained in Colchicum autumnale and Gloriosa superba L. Colchicine have several therapeutic properties, such as antimitotic, anti-inflammatory and antifibrotic. The high demand of market for colchicine supplies prompt various studies to find out the most efficient method to increase the production of colchicine. Conventional cultivation is not able to meet the high demand for colchicine products metabolite, while chemical synthesis can not be an appropriate solution because of the difficulty of synthesizing secondary metabolite compounds with complex chemical structures. The most appropriate solution to increase the production of colchicine is in vitro plant cell culture. However, this method still need to be optimized. This article review eight strategies for cell culture optimization, that is elicitation, product removal in situ, biorhizome culture in bioreactor, colchicine demethylation through microbial transformation, microtuberization, biorhizome culture with specific enzyme, and biorhizome culture in bioreactor. Based on the result of the review, it can be concluded that microtuberization, biorhizome culture with specific enzyme and biorhizoma culture using bioreactor are strategies that are being developed at this time and are considered efficient for commercial production of colchicine.

Keywords: colchicine, plant cell culture, biorhizoma, bioreactor

Diserahkan: 30 Agustus 2018, Diterima 1 September 2018

PENDAHULUAN

Kolkisin merupakan alkaloid utama yang terkandung dalam *Colchicum autumnale* dan *Gloriosa superba* L., namun sumber tanaman utama yang sukses digunakan secara komersil adalah *G. superba*. Dalam aplikasi medis, kolkisin digunakan untuk mengatasi kanker, gout, dan penyakit kardiovaskular ¹.



Gambar 1. Struktur Kimia Kolkisin ².

Sebagai antimitotik, kolkisin memiliki afinitas ikatan yang sangat kuat dengan tubulin sehingga mencegah pembentukan mikrotubulus dan menghambat pembelahan sel ³. Kolkisin juga meningkatkan produksi interleukin-8 yang berperan untuk menghambat kanker pankreatik ⁴. Selain itu, kolkisin digunakan sebagai anti-inflamasi untuk mengatasi gout ^{5, 6}. Dalam mengatasi penyakit

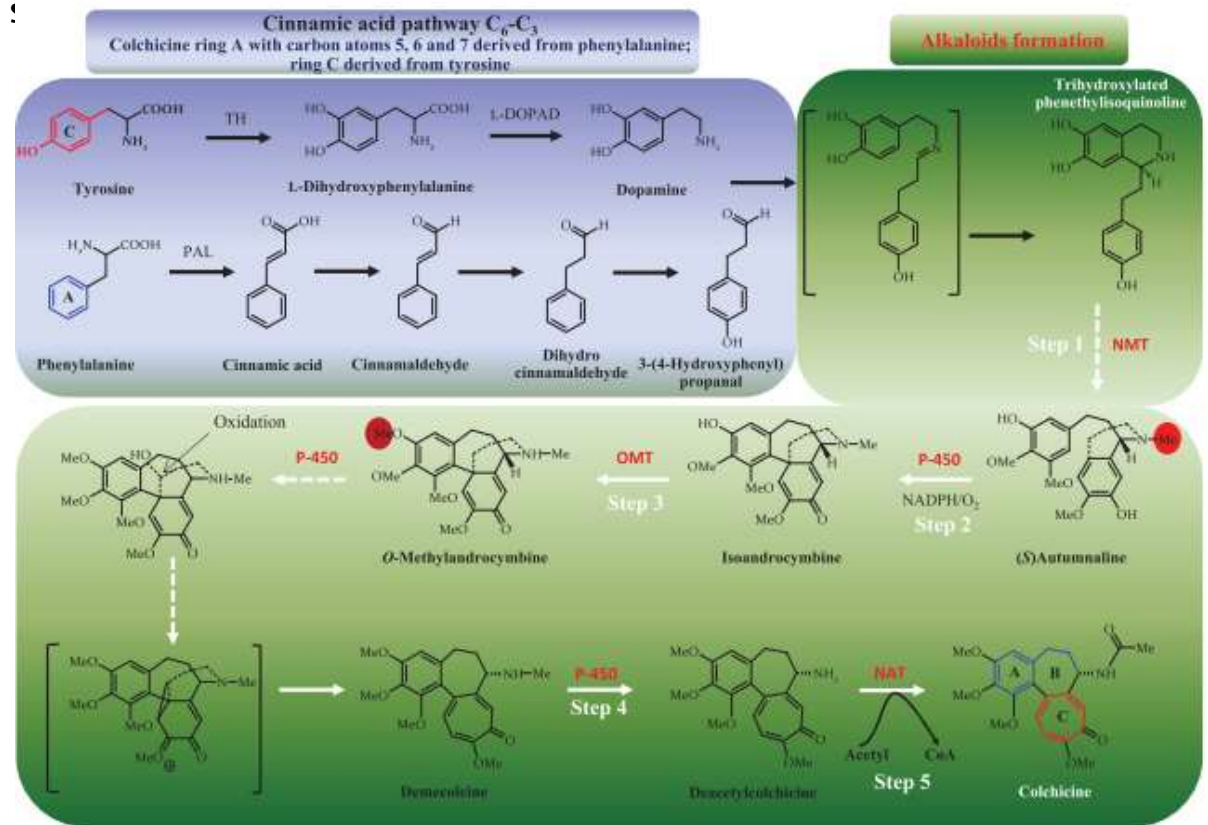
kardiovaskular, kolkisin memiliki mekanisme pencegahan keberulangan fibrilasi artrial setelah operasi jantung ⁷.

Penggunaan kolkisin sebagai obat yang telah diketahui secara luas adalah obat Colcrys[®]. Obat tersebut merupakan sediaan kolkisin tunggal pertama yang disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) pada tahun 2009 yang digunakan untuk pencegahan dan perawatan gout akut serta penanganan demam familial mediteranian ¹.

Kebanyakan metabolit sekunder, termasuk kolkisin, terdapat dalam jumlah yang sangat kecil (< 1% dari total karbon) ⁸. Hal ini dapat menimbulkan hambatan dalam proses budidaya skala besar, khususnya untuk tanaman dengan masa pertumbuhan lambat ⁹.

Berikut skema jalur biosintesis kolkisin pada daun *G. superba*, yang diperoleh dari hasil isolasi mRNA daun *G. superba*, yang kemudian dikonversi menjadi rantai penuh cDNA, lalu dibandingkan dengan database NR dan NT pada NCBI ¹⁰.

Farmaka



Gambar 2. Jalur biosintesis kolkisin pada *G. superba*. TH : tyrosine hydroxylase; L-DOPAD: L-dihydroxyphenylalanine decarboxylase; PAL: phenylalanine ammonia-lyase; NMT: N-methyltransferase; OMT: O-methyltransferase; NAT: N-acetyltransferase¹⁰.

Spesies G. superba umumnya dibudidayakan dari *corm* (bagian batang yang terdapat di bawah tanah) atau rhizoma, dan biji (Ade & Rai, 2010). Keterbatasan metode budidaya konvensional dalam produksi kolkisin dari *G. superba* meliputi : ketersediaan rhizoma/*corm* dan biji bersifat musiman dan bergantung cuaca; memerlukan pestisida; budidaya konvensional membatasi pemanenan secara mekanis; kolkisin ultramurni untuk kepentingan farmasetis menuntut bahan yang bebas pestisida; akumulasi tanaman kolkisin

METODE

Kultur Sel Tanaman

bergantung pada waktu, prosedur, musim dan faktor lingkungan panen; memerlukan biaya besar; tidak memiliki regulasi dan belum diatur dalam *current Good Manufacturing Practice* (cGMP); dan hasil *post-processing* mengandung sejumlah residu kolkisin yang memerlukan tahap desktruksi¹.

Berbagai keterbatasan tersebut mendorong kebutuhan akan alternatif teknologi biomanufaktur dalam produksi kolkisin yang berkelanjutan, efektif dan ekonomis¹.

Selain menggunakan teknik budidaya konvensional, terdapat beberapa metode lain yang dapat menjadi alternatif

untuk memproduksi kolkisin, di antaranya sintesis kimia, penggunaan mikroba atau fungi sebagai inang, dan teknik *in vitro*. Metode sintesis kimia mungkin saja dilakukan dan cukup ekonomis, namun hanya untuk metabolit dengan struktur kimia yang relatif sederhana, seperti aspirin dan efedrin¹¹. Sementara itu, pada umumnya metabolit sekunder memiliki struktur yang kompleks, yang terdiri atas cincin ganda dan pusat khiral, sehingga metode sintesis kimia akan memerlukan biaya yang tinggi. Oleh karena itu, metode lain perlu terus dikembangkan. Metode transfer jalur biosintesis pada inang mikroba atau fungi juga sangat terbatas, karena pengerjaan yang terlalu kompleks dan terbatasnya pengetahuan mengenai jalur biosintesis kolkisin⁹. Pada beberapa tahun terakhir, pengembangan metode untuk memproduksi kolkisin berfokus pada optimalisasi teknologi kultivasi, yaitu melalui kultur sel secara *in vitro*. Kultur sel tanaman merujuk pada teknik budidaya

Strategi untuk Mengoptimalkan Hasil Kultur Sel *In Vitro*

Berikut delapan strategi yang dapat dilakukan untuk mengoptimalkan hasil produksi metabolit sekunder kolkisin :

Elisitasi

Berdasarkan percobaan yang dilakukan oleh Ghosh et al (2006), secara

seluruh bagian tanaman, termasuk sel tunggal, jaringan dan organ, di bawah kondisi aseptik¹². Bagian yang dimaksud dapat pula berupa kalus, suspensi sel, protoplasma, haploid, dan bagian lainnya¹³.

Teknik kultur sel diawali dengan pembuatan suspensi kultur sel. Eksplan (sel atau organ) diisolasi dari material tanaman (contoh : embrio, kulit batang, batang). Selanjutnya eksplan ditempatkan pada media pertumbuhan padat yang spesifik untuk spesies *G. superba* (media pertumbuhan umumnya mengandung sumber karbon, mineral, fitohormon, dan antioksidan). Di bawah kondisi yang sesuai, eksplan akan tumbuh menjadi massa sel tak terdiferensiasi yang berkembang, yang disebut sebagai kultur kalus. Kalus kemudian dipindahkan dari media padat ke media cair, menghasilkan suspensi kultur sel yang kemudian diinkubasi di bawah suhu agitasi dan terkontrol¹⁴.

garis besar, metode elisitasi meliputi prosedur berikut¹⁵:

a. Penetapan Kultur Akar

Kultur akar dari eksplan ujung akar yang diperoleh melalui regenerasi *in vitro* disuplementasi pada suhu 24 ± 1 °C pada kondisi gelap. pH media disesuaikan menjadi 3.7 ± 0.1 sebelum proses autoklav, lalu media dibuat solid dengan

menambahkan agar. Kultur tersebut dipertahankan pada media yang sama selama 6 bulan dengan subkultur rutin setiap 6 minggu. Pertumbuhan dan kandungan kolkisin dari kultur pada media agar padat dan cair ditentukan selama periode 8 minggu.

b. Elisitasi

Elisitor (biotik maupun abiotik) dibuat larutan stok dalam aquadest dengan konsentrasi yang berbeda-beda. pH disesuaikan menjadi 5,7, lalu dilakukan *filter-sterilized* pada larutan sebelum ditambahkan kultur akar pada hari ke 21 dari periode kultur.

c. Ekstraksi dan Analisis Kolkisin

Kultur akar dipanen setelah 1 minggu dari penambahan elisitor. Bobot segar akar dicatat, kemudian akar dikeringkan untuk determinasi bobot kering dan kandungan kolkisin. Volume residual media pada setiap set dicatat, lalu dianalisis kandungan kolkisin pada media tersebut. Setelah dipanen, dikeringkan dan diserbukkan, kultur akar kemudian diekstraksi. Hasil ekstrak akar dilarutkan dalam pelarut polar, lalu dilakukan ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut non polar. Fase polar yang mengandung kolkisin diekstraksi kembali menggunakan pelarut non polar yang berbeda, dengan pengocokan kontinyu pada suhu ruang.

Ekstrak pada fase non polar dipisahkan dari fase polar menggunakan corong pisah. Selanjutnya, ekstrak non polar divaporasi, lalu residu dilarutkan dalam pelarut HPLC *grade*, kemudian difilter dimasukkan ke HPLC. Identifikasi kolkisin dilakukan dengan membandingkan waktu retensi sampel dengan kolkisin standar.

Product Removal in situ

Penambahan kompartemen buatan, seperti resin dan *charcoal*, ke dalam kultur untuk menstimulasi produksi metabolit sekunder⁹.

Imobilisasi Kultur Sel Tanaman

Imobilisasi kultur sel dapat terjadi melalui tujuh mekanisme yang berbeda, di antaranya melalui entrapment, adsorption, ionic bonding, encapsulation, cells contained behind a barrier, dan copolymerization. Secara umum, metode ini melibatkan penempatan sel tanaman pada matriks khusus, berupa polimer dan biopolimer, sehingga sel mengalami imobilisasi dan terabsorpsi oleh matriks¹⁶.

Suspensi Kultur Sel Tanaman dalam Bioreaktor

Metode ini diawali dengan memasukkan kultur sel, nutrien dan hormon pertumbuhan ke dalam labu kocok. Selanjutnya, parameter pertumbuhan dasar ditentukan. Campuran

dalam labu kocok kemudian dipindahkan ke dalam bioreaktor untuk diproduksi ¹⁷.

Demetilasi Kolkisin dengan Bantuan Mikroba

Mutan suatu bakteri (contoh: *B. Megaterium* ACBT03) diisolasi dalam bentuk awalnya. Kemudian, dilakukan isolasi kolkisin dari *G.superba*. Strain awal kemudian ditumbuhkan dalam labu kocok, lalu ditambahkan sumber karbon dan nitrogen. Sumber karbon dan nitrogen yang paling sesuai untuk meningkatkan proses biotransformasi kemudian dianalisis ¹⁵.

Mikrotuberisasi

Tunas apikal diambil, lalu diperbanyak menggunakan media nutrisi dan disuplementasi. Proses ini dilaksanakan selama 6 bulan. Hasil kultur kemudian diukur kadarnya menggunakan instrumen HPLC ¹⁸.

Kultur Biorhizoma dengan Bantuan Enzim Khusus

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur Sel Tanaman

Teknik kultur sel tanaman memiliki potensi yang bagus dalam upaya pengembangbiakkan secara vegetatif untuk berbagai tanaman penting yang memiliki potensi komersil ¹². Produksi metabolit sekunder melalui kultur suspensi sel merupakan teknologi terbaru, ramah

Biorhizoma dikembangkan dari membran daun yang dimodifikasi, yang ditempelkan pada batang sehingga melindungi tunas meristem. Biorhizoma kemudian ditambahkan dengan suatu enzim khusus yang bekerja secara komprehensif untuk mengkatalisis pembentukan intermediet biogenik fungsional yang dikonversi menjadi kolkisin ¹.

Kultur Biorhizoma dalam Bioreaktor

Biorhizoma dikembangkan dari membran daun yang dimodifikasi, yang ditempelkan pada batang sehingga melindungi tunas meristem. Biorhizoma kemudian ditambahkan dengan suatu enzim khusus yang bekerja secara komprehensif untuk mengkatalisis pembentukan intermediet biogenik fungsional yang dikonversi menjadi kolkisin ¹. Biorhizom kemudian dikultur, lalu hasil kultur ditumbuhkan dalam bioreaktor dengan menambahkan nutrisi dan hormon pertumbuhan tertentu.

lingkungan, produksi dapat dikontrol secara ketat, serta dapat memenuhi standar manufaktur yang ditetapkan oleh FDA ⁹.

Di samping potensi yang cukup baik, penggunaan teknik kultur sel tanaman masih dihadapkan dengan dua tantangan utama, yaitu : kemampuan untuk mengembangkan protokol

pengembangbiakkan yang tepat untuk menyediakan jumlah tanaman yang diperlukan dengan kandungan metabolit sekunder yang tinggi, serta desain sistem bioreaktor yang dapat dimanipulasi untuk mengoptimalkan kapabilitas genetik dan biokimia kultur sel tanaman guna meningkatkan tingkat produksi¹⁹. Tantangan tersebut timbul karena masih adanya kelemahan dalam teknik kultur sel tanaman, yaitu rendahnya hasil akumulasi metabolit, dan tingginya variabilitas metabolit⁹. Jenis pendekatan teknologi untuk menjawab tantangan tersebut meliputi manipulasi parameter operasi kultur seperti komposisi media, seleksi garis keturunan sel (*cell lines*), dan komposisi fase gas⁹.

Strategi untuk Mengoptimalkan Hasil Kultur Sel *In Vitro*

Elisitasi

Elisitor merupakan komponen yang menginduksi regulasi suatu gen⁹. Elisitor yang berbeda berperan dalam segmen yang berbeda pada jalur biosintesis²⁰. Meski masih banyak target spesifik elisitor yang belum teridentifikasi, namun elisitasi dapat menjadi *tools* yang sangat berguna dalam kaitannya dengan profil ekspresi gen untuk identifikasi *rate-influencing steps* pada jalur biosintesis metabolit sekunder⁹. Penggunaan elisitor pada kultur sel dan organ tanaman berperan meningkatkan produktivitas bioteknologi dari metabolit

sekunder secara *in vitro*²¹. Hal ini juga berdampak pada peningkatan pelepasan metabolit ke medium¹². Berbagai elisitor baik biotik maupun abiotik telah digunakan untuk meningkatkan produk dari kultur sel.

Terdapat sejumlah penelitian terkait percobaan *feeding* (elisitasi) dengan menambahkan prekursor jalur biosintesis pada kultur sel dan akar dari *G.superba*. Berdasarkan hasil percobaan tersebut, metode elisitasi dilaporkan mampu meningkatkan kandungan kolkisin dari kultur akar hingga 0,19%²².

Berdasarkan hasil dari penggunaan sejumlah elisitor, dapat diamati bahwa kultur organ akar dari *G. superba* dapat dielisitasi baik oleh elisitor biotik maupun abiotik, dengan hasil yang berbeda dalam hal tingkat pelepasan dan akumulasi metabolit sekundernya. Dengan demikian, disimpulkan bahwa elisitor dapat digunakan untuk meningkatkan akumulasi kolkisin secara *in vitro* dan meningkatkan kegunaan dari sistem kultur untuk produksi bioteknologi alkaloid kolkisin²³.

Product Removal in situ

Metode *product removal in situ* menjadi pertimbangan pada beberapa tahun terakhir, terutama ketika penggunaan sistem tanaman transgenik untuk ekspresi protein asing yang berpotensi mengalami degradasi pada tahap sintesis akhir (*post synthesis*)²⁴. Akumulasi metabolit pada

kultur sel mungkin akan terbatas dengan adanya inhibisi balik dan degradasi produk, sehingga diperlukan sistem 2 tahap untuk mengatasi keterbatasan tersebut. Terdapat banyak metabolit sekunder yang kemudian bersifat toksik terhadap kultur ketika dilakukan induksi tingkat tinggi melalui elisitasi, sehingga menyebabkan diperlukannya penghilangan produk akhir untuk pertumbuhan dan akumulasi biomassa yang kontinyu. Metode ini mampu menyediakan *recovery* akhir yang lebih sederhana²³.

Imobilisasi Kultur Sel Tanaman

Imobilisasi kultur sel tanaman mampu meningkatkan akumulasi metabolit. Strategi ini memiliki keuntungan sebagai berikut : berpotensi menghasilkan densitas sel yang lebih tinggi; penghilangan inhibitor yang kontinyu; dan proteksi untuk sel tanaman yang bersifat *shear-sensitive*. Imobilisasi dapat secara sederhana diterapkan dengan menggunakan suatu matriks gel seperti alginat. Meski demikian, metode ini akan memerlukan biaya yang besar untuk skala produksi yang lebih besar, terutama ketika produk yang diinginkan tidak disekresikan ke media dan harus dilepaskan dengan cara sonifikasi atau penggunaan solven organik²⁵.

Suspensi Kultur Sel Tanaman dalam Bioreaktor

Suspensi kultur sel tanaman dalam bioreaktor skala besar memiliki suatu kelemahan mendasar, yaitu adanya dorongan hidrodinamik yang dihasilkan dari agitasi mekanis menimbulkan dampak merugikan terhadap sel tanaman yang dihasilkan. Banyak desain reaktor yang telah diteliti untuk meminimalkan efek merugikan tersebut, umumnya dengan menggunakan desain *airlift* atau kolom gelembung untuk menggantikan impeller mekanis²⁶. Jenis sel tanaman yang berbeda menunjukkan respon yang berbeda terhadap gaya geser, meliputi penurunan viabilitas (daya hidup), pelepasan komponen intrasel, perubahan metabolisme, dan perubahan morfologi²⁷. Secara umum, tingginya gaya geser akan berdampak pada lisis sel dan penurunan viabilitas. Penelitian terakhir mengarah pada modifikasi metabolik melalui transformasi genetik atau optimasi kondisi lingkungan yang spesifik, untuk membiarkan sel agar lebih tahan terhadap efek negatif dari gaya geser⁹.

Penggunaan bioreaktor menuntut biaya yang tinggi akan kebutuhan fasilitasnya, di mana alat yang diperlukan untuk proses kultur seperti bioreaktor *stainless steel* dan peralatan pendukungnya sangat mahal. Begitu pula dengan tuntutan proses aseptis, peralatan untuk pembersihan dan sterilisasi.

Demetilasi Kolkisin dengan Bantuan Mikroba

Dalam bentuk aslinya, kolkisin terlalu toksik untuk digunakan sebagai obat anti-tumor. Sementara itu, turunan kolkisin di antaranya : 3-dimetil kolkisin, kolkisid dan tiokolkisid dengan sifat terapeutik yang telah ditingkatkan sebagai obat anti-inflamasi dan anti-tumor ²⁸ akan memiliki potensi komersil yang baik mengingat komponen tersebut digunakan secara klinis untuk mengatasi leukimia dan tumor ²⁹.

Untuk itu, dikembangkan metode biologis yang melibatkan enzim CYP3A4, yang bertanggungjawab atas demetilasi kolkisin. Sejumlah sel tanaman mampu memproduksi demetil kolkisin, namun dalam kuantitas yang sangat rendah karena hanya berupa konstituen minor ³⁰.

Penelitian oleh Dubey et al (2008) menunjukkan hasil sebagai berikut : Strain mutan dari *Basillus megaterium* ACBT03 berperan dalam demetilasi pada karbon posisi ketiga dari kolkisin dan turunannya. Peningkatan laju demetilasi pada *B. Megaterium* ACBT03-M3 disebabkan oleh adanya peningkatan potensial sel individu pada aktivitas CYP3A4. Proses demetilasi didukung lebih lanjut oleh adanya aktivitas glikosil transferase dari α -amilase yang terdapat pada bakteri ¹⁵. Melalui metode tersebut, turunan kolkisin berupa 3-demetil kolkisin dan tiokolkisin yang digunakan sebagai obat antitumor dapat diproduksi secara komersil dengan lebih efisien.

Mikrotuberisasi

Penelitian yang dilakukan oleh Mukhopadhyay et al (2008) menunjukkan bahwa pengembangbiakan klonal yang dimediasi oleh pembentukan mikrotuber mampu meningkatkan efisiensi mikropropagasi (pembanyakan mikro) pada dua spesies *Gloriosa*, yaitu *G. rothschildiana* dan *G. orangea*. Proses pengerasan menjadi lebih mudah dan efisien dengan adanya pembentukan mikrotuber dan menunjukkan peningkatan dalam tingkat kelangsungan hidup di lapangan ²⁹. Pembanyakan dan peningkatan kadar kolkisin dari spesies *Gloriosa* dengan metode ini terbilang sederhana, ekonomis dan dapat digunakan untuk kepentingan komersil ¹⁸.

Kultur Biorhizoma dengan Bantuan Enzim Khusus

Produksi kolkisin pada *G. superba* terjadi pada kultur kalus, akar adventitia, serta akar rambut dan umbi/rhizoma. Teknologi manufaktur hulu telah dikembangkan dengan menggunakan biorhizoma, dengan bantuan suatu gen biosintesis, enzim dan mekanisme yang sesuai yang digunakan untuk memproduksi kolkisin ¹.

Biorhizoma merupakan turunan akar yang dibuat secara bioteknologi, yang memiliki tunas vegetatif dan digunakan sebagai organ reproduktif dan penyimpanan sebagaimana suatu *biofactory* ¹. Kualitas dan konsentrasi

metabolit sekunder yang dihasilkan berdampak pada kebutuhan proses purifikasi dan biaya produksi. Hal ini yang kemudian berdampak terhadap harga jual sediaan metabolit tersebut di pasaran. Biomanufaktur kolkisin dengan biorhizoma *G. superba* dapat meningkatkan hasil produksi dan kualitas produk, sekaligus menurunkan harga sediaan obat di pasaran ¹.

Kultur Biorhizoma dalam Bioreaktor

Pengembangan lebih lanjut dari strategi sebelumnya adalah penggabungan antara teknik biorhizoma dengan teknik bioreaktor untuk produksi kolkisin yang kontinyu. Kultur bioreaktor mampu memproduksi molekul kecil bioaktif yang tidak bergantung pada interaksi mikroba tanaman, serta mampu mensuplai kebutuhan hasil metabolit dalam skala industri ¹⁷.

Jaringan meristematik biorhizoma memproduksi rhizoma dan kecambah baru, yang berperan sebagai organ penyimpanan. Metode ini menunjukkan perbedaan laju pertumbuhan dan biomassa yang signifikan

dibandingkan metode kultur sel atau akar ³¹. Pada metode ini, elisitasi tidak digunakan karena elisitor seperti methyl jasmonate dapat menghambat multiplikasi biorhizoma ^{17,32}. Suatu penelitian yang menggunakan bioreaktor untuk multiplikasi biorhizoma menunjukkan bahwa bioreaktor tersebut tidak memerlukan agitasi, impeller maupun fase gas ¹. Bioreaktor yang menghasilkan kolkisin dari biorhizoma memiliki kualitas tinggi dengan proses purifikasi hilir yang lebih sederhana karena tidak adanya residu kolkisin. Tidak seperti kultur sel dan akar, kultur biorhizoma dilakukan secara statis selama 6 bulan tanpa memerlukan penggantian atau suplementasi media ³³.

Melalui metode ini, kolkisin dapat diproduksi secara lebih *cost-effective* dengan kuantitas dan kemurnian yang signifikan. Lebih dari itu, desain bioreaktor telah sukses secara komersil untuk produksi skala industri, serta telah memenuhi regulasi cGMP, jaminan dan kualitas ^{34,35}.

Kultur sel tanaman secara *in vitro* merupakan metode yang paling efisien untuk memproduksi kolkisin farmasetis secara komersil dalam skala industri, dibandingkan dengan metode budidaya konvensional dan sintesis kimia. Namun metode tersebut masih memiliki kelemahan, di antaranya hasil akumulasi metabolit yang rendah serta variabilitas hasil metabolit yang tinggi dan tidak terkontrol. Oleh karena itu, berbagai strategi bioteknologi dikembangkan untuk mengoptimalkan metode kultur sel tanaman. Di antara delapan strategi yang ditinjau, dapat disimpulkan bahwa kultur biorhizoma dalam bioreaktor merupakan strategi yang paling efisien, di mana kolkisin dapat diproduksi secara lebih *cost-effective* dengan kuantitas dan kemurnian yang tinggi. Selain itu, desain bioreaktor telah sukses secara komersil untuk produksi molekul farmasetis berbasis tanaman dalam skala industri sesuai dengan persyaratan cGMP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Ibu Tina Rostinawati, S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing atas kesediaan dalam memberikan bimbingan dan masukan selama proses penulisan, serta kepada

Bapak Rizky Abdullah, Ph.D., Apt. selaku dosen mata kuliah Metodologi Riset dan Biostatistika atas ilmu yang diberikan sebagai bekal dalam penyusunan tulisan ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat potensi konflik kepentingan, baik dalam penelitian, kepenulisan, maupun publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sivakumar, G. 2017. Upstream biomanufacturing of pharmaceutical colchicine. *Critical Reviews in Biotechnology*, DOI : 10.1080/07388551.2017.1312269.
2. Ade, R., dan Rai, M.K. 2010. Review: Colchicine, current advances and future prospects. *Nusantara Bioscience*, Vol. 2 (2) : 90-96.
3. Herdman, C. A., Strecker, T. E., Tanpure, R. P., Chen, Z., Winters, A., Gerberich, J., et al. 2016. Synthesis and biological evaluation of benzocyclooctene-based and indene-based anticancer agents that function as inhibitors of tubulin polymerization. *Medchemcomm*, 7 : 2418–2427.
4. Yokoyama, C., Yajima, C., Machida, T., Kawahito, Y., Uchida, M., dan Hisatomi, H. 2017. Interleukin-8 enhances the effect of colchicine on cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 485 : 89–94.
5. Wilson, L., dan Saseen, J. J. 2016. Gouty arthritis: a review of acute management and prevention. *Pharmacotherapy*, 36 : 906–922.
6. Abhishek, A., Roddy, E., dan Doherty, M. 2017. Gout - a guide for the general and acute physicians. *Clin. Med.*, 17 : 54–59.

7. Solak, Y., Siriopol, D., Yildiz, A., Yilmaz, M. I., Ortiz, A., Covic, A., et al. 2017. Colchicine in renal medicine: new virtues of an ancient friend. *Blood Puri.f*, 43 : 125–135.
8. Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E. 2011. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci.*, 161 : 839–851.
9. Kolewe, M.E., Gaurav, V., dan Roberts, S.C. 2008. Pharmaceutically Active Natural Product Synthesis and Supply via Plant Cell Culture Technology. *Molecular Pharmaceutics*, 5 (2) : 243–256.
10. Sivakumar G. 2013. Colchicine semisynthetics: chemotherapeutics for cancer. *Curr Med Chem.*, 20 : 892–898.
11. Wink, M., Alfermann, A. W., Franke, R., Wetterauer, B., et al. 2005. Sustainable bioproduction of phytochemicals by plant in vitro cultures: anticancer agents. *Plant Genet. Resources*, 3 : 90–100.
12. Pitta-Alvarez, S.I., Spollansky, T.C., dan Giulietti, A.M. 2000. The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*. *Enzyme Microb. Technol.*, 26 : 252–258
13. Zambre, M., B. Chowdhury, Y. H. Kuo, M. V. Montagu, G. Angenon and F. Lambein. 2002. Prolific regeneration of fertile plants from green nodular callus induced from meristematic tissues in *Lathyrus sativus* L. (grass pea). *Plant Sci.*, 163 : 1107–1112.
14. Zhang, K. R., dan John, P. C. L. 2005. Raised level of cyclin dependent kinase A after prolonged suspension culture of *Nicotiana plumbaginifolia* is associated with more rapid growth and division, diminished cytoskeleton and lost capacity for regeneration: implications for instability of cultured plant cells. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 82 : 295–308.
15. Dubey, K.K., Ray, A.R., dan Behera, B.K. 2008. Production of demethylated colchicine through microbial transformation and scale-up process development. *Process Biochemistry*, 43 : 251–257.
16. Sivakumar, G., Yu, K.W., Lee, J.S. 2006. Tissue cultured mountain ginseng adventitious rootsTM : safety and toxicity evaluation. *Eng Life Sci.*, 6 : 372–383.
17. Sivakumar, G., Medina-Bolivar, F., Lay, J.O., et al. 2011. Bioprocess and bioreactor: next generation technology for production of potential plant-based antidiabetic and antioxidant molecules. *Curr Med Chem.*, 18 : 79–90.
18. Mukhopadhyay, M.J., Lahiri, K., dan Mukhopadhyay, S. 2008. In vitro Microtuberization and Enhanced Colchicine Accumulation in Two Species of *Gloriosa*. *Cytologia*, 73 (4) : 357–363.
19. Al-Sane , K.O., et al. 2005. Cell suspension culture and secondary metabolites production in african violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl). *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 1 (1) : 84–92.
20. Wang, Y. D., Yuan, Y. J., dan Wu, J. C. 2004. Induction studies of methyl jasmonate and salicylic acid on taxane production in suspension cultures of *Taxus chinensis* var. *mairei*. *Biochem. Eng. J.*, 19 : 259–265.
21. Chen, H., Chen, F., Chiu, Francis ,C.K., dan Lo Cindy, M.Y. 2001. The effect of yeast elicitor on the growth and secondary metabolism of hairy root cultures of *Salvia miltiorrhiza*. *Enzyme Microb. Technol.*, 28 : 100–105.
22. Ghosh, B., Mukherjee, M., Jha, T.B., dan Jha, S. 2002. Enhanced colchicine production in root cultures of *Gloriosa superba* by direct and indirect precursors of the biosynthetic pathway. *Biotechnol. Lett.*, 24 : 231–234.
23. Ghosh, S., Ghosh, B., dan Jha, S. 2006. Aluminium chloride enhances colchicine production in root cultures of *Gloriosa superba*. *Biotechnology Letters*, 28 : 497–503.

24. Doran, P. M. 2006. Foreign protein degradation and instability in plants and plant tissue cultures. *Trends Biotechnol.*, 24 : 426–432.
25. Verpoorte, R., Contin, A., Memelink, J. 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochem. Rev*, 1 : 13–25.
26. Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., dan Gontier, E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci.*, 161 : 839–851.
27. Zhong, J. 2002. Biochemical engineering of the production of plant specific secondary metabolites by cell suspension cultures. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 72, 2–26.
28. Boye, O., dan Brossi, A. 1992. *Tropolonic Colchicine Alkaloids and Allocongeners*. Dalam : Brossi, A., Cordell, G., editors. *The Alkaloids Chemistry and Pharmacology*, Vol. 41. New York and London : Academic Press.
29. Poulev, A., Bombardelli, E., Ponzzone, C., Zenk, M.H. 1995. Regioselective bioconversion of colchicine and thiocolchicine into their corresponding 3- demethyl derivatives. *J Ferment Bioeng.*, 79 : 33–38.
30. Solet J.M., Bister, Miel, F., Galons, H., Spagnoli, R., Guignard, J.L., Cosson, L. 1993. *Glycosylation of thiocolchicine by a cell suspension culture of Centella asiatica Phytochemistry*, Vol. 33. Oxford, New York : Pergamon Press.
31. Huang, Q., Huang, X., Deng, J., et al. 2016. Differential gene expression between leaf and rhizome in *Atractylodes lancea*: a comparative transcriptome analysis. *Front Plant Sci.*, 7 : 348.
32. Sivakumar, G., Yu, K.W., Paek, K.Y. 2005. Production of biomass and ginsenosides from adventitious roots of *Panax ginseng* in bioreactor cultures. *Eng Life Sci.*, 5 : 333–342.
33. Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15 : 473-497.
34. Sivakumar, G., Yu, K.W., Lee, J.S. 2006. Tissue cultured mountain ginseng adventitious rootsTM : safety and toxicity evaluation. *Eng Life Sci.*, 6 : 372–383.
35. Bhatia, S., dan Bera, T. 2015. Chapter 7 - Classical and Nonclassical Techniques for Secondary Metabolite Production in Plant Cell Culture. *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences* : 231-291. DOI : 10.1016/B978-0-12-802221-4.00007-8.