

## Penghasilan produk novel berasaskan herba melalui teknologi omiks

(Development of novel herb-based product through omics technology)

Indu Bala Jaganath dan Sanimah Simoh

### Pengenalan

Dengan peningkatan populasi penduduk dunia, cabaran utama sektor pertanian sekarang bukan hanya terhad kepada usaha untuk meningkatkan pengeluaran makanan, tetapi juga untuk menghasilkannya secara mapan dan dalam masa yang sama mengekalkan fungsi atau menambah baik nilai/komposisi nutrisinya. Berpandukan objektif ini, pengeluaran makanan semakin bergantung pada produk yang berasaskan pengetahuan dan pengkhususan sains. Terkini, strategi baharu dalam penyelidikan bioteknologi telah muncul sebagai pemangkin untuk memperkuuh pertumbuhan dan inovasi sektor pertanian. Bioteknologi merupakan platform yang menyediakan pengetahuan berkenaan mekanisme biologi pada peringkat molekul dan seterusnya membolehkan saintis mencipta sesuatu teknologi atau produk yang inovatif.

Bioteknologi seperti juga bidang biologi yang lain, telah melalui proses transformasi secara besar-besaran sejak beberapa tahun kebelakangan ini. Pada abad ke-20, bioteknologi telah diamalkan melalui pendekatan 'reductionist' apabila semua sel dan komponennya telah dikaji sebagai entiti yang berasingan. Walaupun melalui pendekatan ini segala maklumat berupaya dijana dengan banyak sekali, tetapi realitinya ia merupakan pendekatan yang sempit berbanding dengan mekanisme sebenar yang berlaku dalam sesuatu organisma. Sesuatu proses biologi pada amnya tidak atau jarang sekali dikawal atur oleh hanya satu gen, sebaliknya ia dikawal atur oleh rangkaian gen, protein serta metabolit yang berbeza-beza. Kemunculan pendekatan molekul secara 'high-throughput' pada tahun 2000-an, menyediakan suatu pendekatan yang lebih holistik apabila perubahan sesuatu gen serta produknya seperti protein dan metabolit berupaya dikaji secara seiring atau bergandingan. Bidang baharu bioteknologi ini dikenali sebagai 'omics'. Ia boleh dibahagikan kepada beberapa subbidang berlainan termasuk genomik, metabolomik, proteomik dan bioinformatik. Genomik iaitu kajian berkaitan gen-gen dalam tumbuhan menjelaskan apa yang akan berlaku, sementara transkriptomik dan proteomik menjelaskan apa yang sedang berlaku dalam sesuatu sistem yang dikaji. Metabolomik iaitu subset terakhir dalam omiks menjelaskan apa yang sebenarnya berlaku hasil daripada sesuatu proses yang terjadi di dalam tumbuhan. Kombinasi semua subset omiks ini menyediakan pemahaman yang lebih komprehensif dan holistik terhadap mekanisme biologi yang berlaku dalam sesuatu

organisma. Maklumat yang dijana melalui teknologi ini telah berjaya diaplikasikan untuk pelbagai tujuan, antaranya untuk pembiakbakaan tumbuhan, pemuliharaan biodiversiti, diagnosis penyakit tumbuhan dan haiwan, pembangunan vaksin dan protein terapeutik serta untuk penambahbaikan nilai pemakanan di dalam sesuatu tumbuhan.

Dalam bidang sains pemakanan, metabolomik merupakan komponen yang paling utama dalam omiks. Hasil penyelidikan metabolomik apabila digabungkan dengan hasil kajian subset omiks yang lain akan memberikan keyakinan kepada syarikat yang berasaskan makanan atau makanan berfungsi bahawa produk yang mereka tawarkan adalah berasaskan sains atau telah ditentukan kesahihannya melalui validasi saintifik. Kriteria ini didapati telah berjaya meningkatkan dan seterusnya memacu pasaran nutraceutikal yang sekarang ini berkembang begitu pesat dan bercirikan antarabangsa. Di peringkat global, pasaran nutraceutikal dianggarkan berjumlah RM151 juta pada tahun 2011 dan dianggarkan akan menccah sehingga RM207 juta pada tahun 2016, iaitu meningkat sehingga 6.5%.

#### **Aplikasi metabolomik untuk penambahbaikan tanaman**

Kemajuan terkini peralatan ‘high-throughput’ seperti spektrometri massa dan ‘nuclear magnetic resonance’ membolehkan pengukuran secara ‘non-targeted’ dan identifikasi metabolit dilakukan dalam campuran ekstrak tumbuhan. Ini menghasilkan kewujudan bidang sains analitikal baharu yang dinamakan metabolomik. Metabolomik merujuk kepada pendekatan ‘non-targeted’ dan holistik untuk pemantauan secara komprehensif semua metabolit dalam sesuatu organisme. Metabolomik menyediakan cap jari atau gambaran terkini sesuatu sel dalam keadaan fisiologinya pada masa tertentu dan pada masa kini ia adalah setanding dengan ‘penujujukan secara keseluruhan genom’.

Dalam bidang sains pemakanan, metabolomik biasanya diaplikasi untuk mengenal pasti bahan bioaktif dalam produk semula jadi atau makanan dalam usaha untuk memahami secara lebih mendalam sama ada sesuatu produk itu berpotensi memberikan kesan yang bermanfaat atau sebaliknya. Teknologi ini juga telah diguna pakai untuk mempercepatkan penemuan ubatan dan penganalisisan komposisi pemakanan secara menyeluruh di mana sejumlah besar metabolit boleh diukur dan dikenal pasti secara serentak dalam satu proses penganalisisan sahaja dengan menggunakan peralatan LC-MS (*Liquid Chromatography Mass Spectrometer*) atau GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometer*). Ini akan meningkatkan pemahaman secara lebih terperinci di peringkat molekul terhadap metabolit/komponen yang menyumbang kepada rasa, aroma atau warna tertentu dalam sesuatu makanan atau minuman. Pendekatan metabolomik juga boleh dijalankan terhadap makanan atau minuman berfungsi/nutraceutikal untuk mengenal pasti kesan penyediaan dan pemprosesan makanan tersebut terhadap metabolit/komponen

utamanya. Metabolomik juga berfungsi untuk membantu dalam proses penyaringan dan pembiakbaaan tanaman makanan yang bernilai tinggi. Selain itu, pendekatan metabolomik juga boleh diaplikasikan untuk merungkai tapak jalan biosintesis sesuatu bahan bioaktif, menginterpretasi jalanan interaksi gen-protein-metabolit dan seterusnya membantu dalam mengenal pasti asas pengawalaturan di dalam tumbuhan yang dikaji.

Penyelidikan metabolomik telah dimulakan secara aktif di Pusat Penyelidikan Bioteknologi sejak beberapa tahun kebelakangan ini. Analisis metabolomik telah dijalankan terhadap beberapa tanaman penting seperti betik (*Carica papaya*), pitaya (*Hylocereus* sp.), belimbing dan tanaman herba seperti *Phyllanthus* sp., *Gynura procumbens* dan *Bacopa monnierii*.

Langkah pertama yang paling penting dalam kajian metabolomik untuk penganalisaan bahan bioaktif ialah kaedah mengoptimumkan penyediaan sampel. Langkah pengawalan perlu diambil perhatian semasa penyediaan sampel untuk meminimumkan degradasi bahan bioaktif di dalam sampel tersebut sebagaimana yang ditunjukkan seperti Gambar 1. Antara langkah paling penting adalah dengan mengisar sampel dalam larutan nitrogen cecair diikuti dengan mengeringkannya menggunakan teknik pengeringan beku (*freeze drying*). Dua langkah di atas perlu dijalankan sebelum sampel dapat disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}/-20^{\circ}\text{C}$  untuk digunakan dalam eksperimen selanjutnya.

Menggunakan pendekatan metabolomik, makmal di Pusat Penyelidikan Bioteknologi telah berjaya mengenal pasti dan merungkai tapak jalan biosintesis untuk karotenoid, flavonoid, tannin, terpenoid serta asid fenolik di dalam tanaman yang dinyatakan di atas. Di dalam betik, tapak jalan biosintesis untuk karotenoid didapati aktif apabila bahan bioaktif seperti lutein,  $\beta$ -karotena, likopena dan  $\beta$ -criptoxantin telah dikenal pasti dengan menggunakan LC-MS. Dengan menggunakan peralatan GC-MS, sejumlah besar metabolit yang terdiri daripada kelas amino/organik asid, asid lemak tenu/tidak tenu, fenolik ringkas, vitamin dan sterol tumbuhan telah berjaya dikenal pasti daripada beberapa varieti betik tempatan termasuk Eksotika 1, Sekaki dan Setiawan. *Gynura procumbens* pula didapati kaya dengan asid fenolik seperti *quinic acid*, *caffeoylequinic acid* dan *dicafeoylquinic acid* sementara *Bacopa monnierii* didapati mengandungi banyak terpenoid termasuk *bacosides*, *bacoposides* dan *phenylethanoid glycosides*. Dalam buah pitaya (*Hylocereus* sp.), bahan bioaktif utama terdiri daripada kelas betasianin sementara buah belimbing kaya dengan bahan bioaktif prosianidin.

Beberapa bahan bioaktif utama telah berjaya dikenal pasti dalam herba *Phyllanthus* sp. Tanaman ini didapati kaya dengan bahan bioaktif galotanin, elagitanin dan flavonoid yang menunjukkan tapak jalan biosintesis utama adalah berasal daripada tapak jalan polifenol. Penyelidikan terdahulu menunjukkan elagitanin bermanfaat kepada kesihatan termasuk

mempunyai kesan *antiatherogenic*, *antithrombotic*, *antiinflammatory* dan *antiangiogenic* pada aras kepekatan serendah 10–100  $\mu\text{M}$ . Penyelidikan metabolomik lanjutan yang dijalankan terhadap *Phyllanthus* sp. juga dapat mengenal pasti jalinan molekul yang mengawal atur interaksi antara tekanan persekitaran dengan peningkatan penghasilan metabolit sekunder yang bernilai tinggi untuk kesihatan. Kajian berkenaan kesan tekanan persekitaran terhadap fluks tapak jalan metabolik menunjukkan tekanan air mempengaruhi fluks tapak jalan antosianin di dalam *Phyllanthus urinaria* (*Gambar 2*), manakala tekanan cahaya UVB merangsang tapak jalan elagitanin dan polifenol di dalam *Phyllanthus watsonii*, *P. niruri* dan *P. urinaria*. Tekanan UVB pada 210–215  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  didapati telah meningkatkan aras pelbagai fitonutrien dalam *Phyllanthus* sp. secara signifikan (*Gambar 3*). Fitonutrien seperti rutin, asid kaffeolkuinik, amarin, asid galik, kuersetin glikosida, corilagen, castallin, *trigalloylglucopyroniside* dan geraniin merupakan bahan bioaktif yang paling dominan apabila diberi rawatan menggunakan pendekatan ini.

Metabolomik menyediakan pemahaman yang lebih mendalam terhadap sistem atau proses yang berlaku di dalam tumbuhan. Ini membolehkan para saintis menggunakan maklumat ini untuk memanipulasi mekanisme pengawalan di dalam tanaman untuk tujuan menambah baik atau meningkatkan penghasilan komponen nutrisi di dalam tanaman yang dikaji. Hasil kajian terhadap *Phyllanthus* ini dengan jelas menunjukkan tekanan seperti air dan cahaya UV berupaya meningkatkan dan mempengaruhi penghasilan bahan bioaktif dalam sesuatu tanaman (No. aplikasi paten: PI2011006254). Dalam sektor pertanian, ia boleh dimanfaatkan sebagai salah satu amalan kultur yang baik, contohnya tanaman boleh didedahkan kepada tekanan air selama 48 jam sebelum dituai untuk mengoptimumkan komposisi bahan bioaktif/nutrien. Selain itu, penuaian tanaman boleh dijalankan secara meluas pada sebelah petang berbanding pada waktu pagi untuk mendapatkan pendedahan cahaya UV yang maksimum.

Pada masa kini, keupayaan metabolomik mempunyai hadnya iaitu ketidakbolehannya untuk mengukur atau mengesan secara komprehensif semua metabolit dalam metabolisme tumbuhan yang dikaji. Ini disebabkan metabolit di dalam tumbuhan adalah terlalu kompleks dan terdiri daripada pelbagai kelas dan mempunyai pelbagai variasi biologi. Selain itu, keupayaan sesuatu peralatan untuk mengukur atau mengesan bahan bioaktif/metabolit terbatas dalam julat yang tertentu sahaja.

### **Ke arah penghasilan produk nilai tambah**

Masalah peningkatan bilangan patogen yang rintang terhadap antibiotik serta kemunculan penyakit berjangkit menyebabkan bertambahnya permintaan terhadap ubat-ubatan baharu oleh industri farmaseutikal dan nutraceutikal. Sains omiks boleh memainkan peranan utama dengan menyediakan pendekatan secara *high-throughput* untuk mengenal pasti bahan bioaktif yang



(a) Sampel dikisar di dalam nitrogen cecair



(b) Sampel yang telah dikisar dikeringkan menggunakan teknik pengeringan beku

*Gambar 1. Ilustrasi skematik menunjukkan langkah-langkah utama yang terlibat dalam penyediaan sampel menggunakan pendekatan metabolomik*



Penghasilan antosianin  
dalam *P. urinaria* yang  
diberi rawatan tekanan  
air

*Gambar 2. Kesan tekanan persekitaran terhadap fluks tapak jalan metabolismik*



Ekstrak kering daripada  
*P. urinaria* kawalan

Penghasilan antosianin  
dalam ekstrak kering  
*P. urinaria* yang diberi  
rawatan tekanan air

*Gambar 3. Ekstrak kering daripada *P. urinaria* kawalan dan yang diberi rawatan tekanan air*

berpotensi daripada sumber biodiversiti Malaysia yang luas. Sebagai contoh, pengenalpastian bahan bioaktif yang bernilai tinggi daripada dukung anak (*Phyllanthus* sp.) melalui pendekatan metabolomik yang dijalankan seiring dengan ujian bioassai dan toksikologi berpotensi melonjakkan kegunaan tanaman ini dan teknologi yang diguna pakai maju selangkah ke hadapan, seterusnya mampu menembusi pasaran nutraceutical. Koktail bahan bioaktif daripada ekstrak *Phyllanthus* didapati mempunyai aktiviti antikolesterol, antikanker dan antivirus (No. aplikasi paten: PI2012000714 dan PI 2012001017). Seperti juga aplikasi di atas, bahan bioaktif bernilai tinggi daripada sumber tumbuh-

tumbuhan dan mikroorganisma lain yang berpotensi juga boleh dikenal pasti dan dicirikan dengan menggunakan pendekatan yang serupa. Semua bahan bioaktif ini boleh dimanfaatkan untuk menambah baik kualiti nutrisi bagi industri makanan berfungsi dan nutraceutikal.

**Hala tuju penyelidikan omik untuk penambahbaikan tanaman**  
Pengetahuan yang diperoleh daripada penyelidikan omiks menyediakan asas sains yang kukuh dalam usaha untuk memanipulasi tapak jalan biosintesis sesuatu bahan bioaktif sama ada melalui manipulasi secara fisiologi atau tanaman terubah suai genetik. Dengan kepesatan kemajuan teknologi omiks, produk baharu serta novel yang berpotensi memberi manfaat pada kesihatan dijangka akan membanjiri pasaran tempatan pada masa hadapan. Di luar negara, kejayaan ini telah dapat dibuktikan terutamanya yang berkaitan dengan tanaman terubah suai genetik. Sebagai contoh, terciptanya makanan terubah suai genetik yang rendah kandungan glisemik yang mana makanan ini mengandungi karbohidrat yang boleh dimetabolisme secara perlahan-lahan, seterusnya memberi manfaat kepada individu yang berpotensi untuk mendapat penyakit sindrom metabolik atau diabetik. Contoh lain termasuk makanan terubah suai genetik yang mengandungi karotenoid yang tinggi seperti 'Golden rice', canola (*Brassica rapa*), tomato serta anggur (*Vitis vinifera*) yang mengandungi proantosianidin yang tinggi.

Memandangkan Malaysia merupakan negara yang kaya dengan sumber biodiversitinya, satu lagi sasaran yang boleh dicapai melalui penyelidikan omiks ini adalah membangunkan tumbuh-tumbuhan sebagai tanaman pharma. Tanaman pharma merupakan tanaman terubah suai genetik yang menghasilkan produk farmaseutikal untuk merawat penyakit pada manusia atau haiwan. Kelebihan utama pendekatan ini antaranya pengeluaran produk ubat-ubatan daripada tanaman tersebut boleh dijalankan dalam skala pertanian yang diperlukan di mana tanaman ini boleh ditanam secara meluas dan tanpa had. Pendekatan ini juga menjadi alternatif kepada protein yang sukar atau tidak boleh dihasilkan melalui sistem mikrob. Teknologi seperti ini dijangka akan menghasilkan impak yang besar kepada ekonomi memandangkan produk yang lebih stabil, kos pengeluaran yang rendah dengan hasil yang tinggi. Contoh penyelidikan seperti ini terhadap tanaman tertentu telah dijalankan di luar negara termasuk jagung, tembakau, canola dan kacang soya. Antara produk farmaseutikal yang dihasilkan dengan pendekatan ini termasuk darah dan protein untuk pembekuan darah, vaksin, kolagen, bahan antivirus dan antimikrob, hormon pertumbuhan serta pelbagai enzim dan antibodi. Sebagai contoh, SemBioSyst, syarikat farmaseutikal dari Kanada telah berjaya memulakan percubaan klinikal untuk menghasilkan insulin daripada tanaman *safflower*. Dengan terhasilnya produk ini, kos penghasilan insulin dijangka akan menurun sehingga 40%.

## Bibliografi

- Al-Babili, S. dan Beyer, P. (2005). Golden Rice – five years on the road – five years to go? *Trends in Plt. Sc.* 10: 565–573
- Carrari, F., Baxter, C., Usadel, B., Urbanczyk-Wochniak, E., Zanor, M.I., Nunes-Nesi, A., Nikiforova, V., Centero, D., Ratzka, A., Pauly, M., Sweetlove, L.J., dan Fernie, A.R. (2006). Integrated analysis of metabolite and transcript levels reveals the metabolic shift that underlie tomato fruit development and highlight that regulatory aspects of metabolic network behaviour. *Plant Physiol.* 142: 1380–1396
- Dunn, W.B. dan Ellis, D.I. (2005) Metabolomics: current analytical platforms and methodologies. *Trends Anal. Chem.* 24: 285–294
- Farag, M.A., Huhman, D.V., Dixon, R.A. dan Sumner, L.W. (2008). Metabolomics reveals novel pathways and differential mechanistic and elicitor-specific responses in phenylpropanoid and isoflavonoid biosynthesis in *Medicago truncatula*. *Cell Cult. Plt. Physiol.* 146:387–402
- Fernie, A.R., Trethewey, R.N. dan Krotzky, A.J. (2004), Metabolite profiling: from diagnostics to systems biology. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 5: 763–769
- Fernie, A.R., Geigenberger, P. dan Stitt, M. (2005) Flux an important, but neglected, component of functional genomics. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8: 174–182
- Fernie, A.R. dan Schauer, N. (2008). Metabolomics-assisted breeding: a viable option for crop improvement? *Trends in Genetics.* 25: 39–48
- Larrosa M, García-Conesa M.T., Espín J.C. dan Tomás-Barberán F.A. (2010). Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. *Mol Aspects Med.* 31(6): 513–39
- Lee, S.H., Jaganath, I.B., Wang, S.M. dan Sekaran, S.D. (2011). Antimetastatic Effects of *Phyllanthus* on Human Lung (A549) and Breast (MCF-7) Cancer Cell. *PLoS ONE* 6(6): e20994. doi:10.1371/journal.pone.0020994
- Ma, J.K.C., Chikwamba, R., Sparrow, P., Fischer, R., Mahoney, R. dan Twyman, R.M. (2005). Plant-derived pharmaceuticals – the road forward. *Trends Plant Sci.* 10: 580–585
- Mack, G.S. (2004). Can complexity be commercialized? *Nature Biotech.* 22: 1223–1229
- Morgenthal, K., Weckwerth, W. dan Steuer, R. (2006). Metabolomic networks in plants: Transitions from pattern recognition to biological interpretation. *Biosystems* 83: 108–117
- Oksman-Caldentey, K.M. dan Saito, K. (2005). Integrating genomics and metabolomics for engineering plant metabolic pathways. *Curr. Opin. Plt. Biotech.* 16:174–179
- Ratcliffe, R.G. dan Shacher-Hill, Y. (2005). Revealing metabolic phenotypes in plants: inputs from NMR analysis. *Biol. Rev. Camb. Philo.* 80: 27–43
- Rehbinder, E., Engelhard, M., Hagen, K. dan Jorgensen R.B. (2008). *Pharming: Promises and Risks of Biopharmaceuticals Derived from Genetically Modified Plants and Animals.* 334 hlm. Berlin: Springer-Verlag Publishing.
- Spök, A. (2007). Molecular farming on the rise – GMO regulators walking on a tight rope. *Trends in Biotech.* 25: 74–82
- Tang, Y.Q., Jaganath, I.B. dan Sekaran S.D. (2010). *Phyllanthus* spp. Induces Selective Growth Inhibition of PC-3 and MeWo Human Cancer Cells through Modulation of Cell Cycle and Induction of Apoptosis. *PLoS ONE* 5(9): e12644. doi:10.1371/journal.pone.0012644
- Veenstra, T.D. (2012). Metabolomics: the final frontier? *Genome Med.* 40.doi:10.1186/gm339.
- Wishart, D.S. (2007). Current progress in computational metabolomics.*Brief. Bioinform.* 1–15
- Xie, D.Y., Sharma, S.R., Paiva, N.L., Ferreira, D. dan Dixon, R.A. (2003). Role of anthocyanidin reductase, encoded by BANYULS in plant flavonoid biosynthesis. *Science.* 299: 396–399

### **Ringkasan**

Bidang bioteknologi terkini seperti omiks dan khasnya metabolomik mencetuskan revolusi dalam bidang sains pemakanan. Metabolomik menyediakan pendekatan penyaringan secara *high-throughput* bahan bioaktif yang bermanfaat kepada kesihatan daripada kepelbagaiannya biodiversiti yang terdapat di Malaysia. Bahan bioaktif ini berpotensi untuk dieksplotasikan kegunaannya dalam pasaran nutraceutical dan farmaseutikal. Tumbuhan herba pada kebiasaannya mengandungi campuran kompleks pelbagai fitonutrien berbeza yang bertindak secara sinergi untuk memberi kesan terapeutiknya. Melalui pendekatan metabolomik, kuantiti maksimum fitonutrien dalam ekstrak botanikal dapat ditentukan untuk tujuan piawaian dan kawalan kualiti untuk penghasilan produk novel. Maklumat yang diperoleh daripada kajian omiks ini juga dapat menyediakan platform asas bagi penyelidikan kejuruteraan tanaman pharma dalam meningkatkan bahan bioaktif novel untuk kegunaan industri nutraceutical dan farmaseutikal yang kini sedang berkembang pesat.

### **Summary**

New field in biotechnology such as omics, specifically metabolomics is causing a revolution in nutritional sciences. Metabolomics offers a high-throughput screening approach to mine health benefiting compounds from the vast biodiversity present in Malaysia to be potentially utilized in niche pharmaceutical and nutraceutical markets. Herbs normally contain a complex mixture of different phytonutrients which in many instances act synergistically to give its therapeutic effects. Through metabolomics, the maximal quantity of phytonutrients in botanical extracts can be readily defined for standardization and quality control purposes for the generation of novel products. The information provided by omics studies will also eventually provide the necessary platform needed for future research in engineering pharma plants for the production of enhanced amounts of novel bioactive compounds to cater the ever-growing pharmaceutical and nutraceutical industries.

### **Pengarang**

Indu Bala Jaganath

Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,  
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur

E-mel: indu@mardi.gov.my

Sanimah Simoh

Pusat Penyelidikan Bioteknologi, Ibu Pejabat MARDI, Serdang,  
Peti Surat 12301, 50774 Kuala Lumpur