

Biosintesis glikosida steviol, penyebab rasa manis pada *Stevia* dikendalikan pada tingkat molekuler?

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) tergolong ke dalam tanaman yang memiliki rasa manis 200-300 kali namun masih tetap rendah kalori. Rasa manis tersebut dihasilkan oleh glikosida steviol yang disintesis melalui jalur metabolisme MEP. Biosintesis tersebut kini diketahui dikendalikan oleh puluhan hingga ratusan respon molekuler yang memperlihatkan kontrol yang sangat rumit. Meskipun demikian, ilmuwan menemukan berbagai cara untuk memuliakan tanaman *Stevia*, salah satunya dengan mutagenesis terinduksi.



Ilustrasi daun Stevia (Sumber gambar: www.amazon.in).

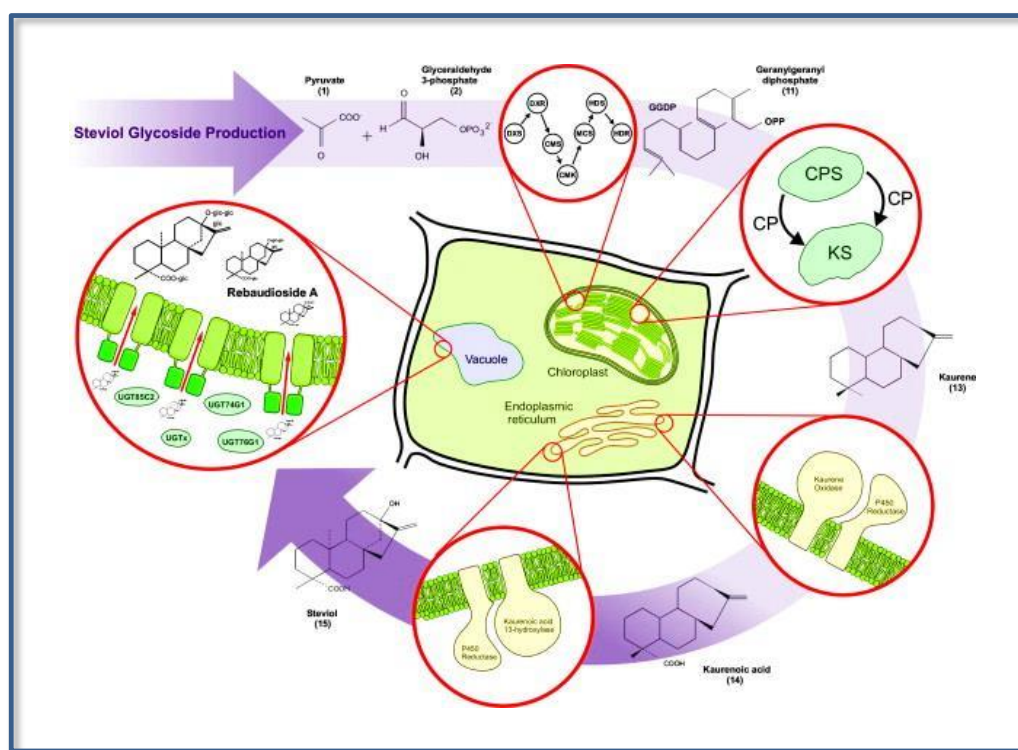
Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) tergolong ke dalam tanaman obat yang memiliki rasa manis 200-300 kali dibanding sukrosa. Rasa manis tersebut dihasilkan oleh glikosida diterpenoid yang lebih dikenal dengan nama glikosida steviol [1]. Glikosida steviol ditemukan melimpah dalam spesies *S. rebaudiana*, *S. phlebophylla* dan *Rubus suavissimus* (atau yang sering disebut sebagai teh manis Tiongkok). Glikosida steviol utama seperti steviosida, rebaudiosida-A, steviolmonosida, steviolbiosida dan duklosida merupakan pemanis tanpa kalori dengan glikemik indeks nol. Senyawa-senyawa tersebut bersama dengan metabolit sekunder lainnya seperti alkaloid, fenol dan flavonoid membuat tanaman *Stevia* sangat cocok untuk digunakan sebagai obat maupun zat aditif pada makanan [2].

Glikosida steviol disintesis pada jalur metabolisme yang sama dengan asam giberelat (GA3) serta klorofil b. Keduanya merupakan terpenoid dan berasal dari jalur metabolisme 2-C-methyl-D-erythrose-4-phosphate (MEP) yang berlangsung di dalam plastid, proses dilanjutkan ke retikulum endoplasma dan vakuola [3]. Glikosida steviol diakumulasi pada jaringan daun dan kemudian disebarkan pada bagian tanaman lain kecuali akar [4]. Konsentrasi glikosida steviol pada tanaman *Stevia* mencapai 10.000 kali lebih tinggi dibanding asam giberelat. Studi hingga saat ini belum menemukan jawaban yang jelas kenapa metabolisme glikosida steviol lebih dominan dibanding GA3 [3].

Biosintesis dari jalur metabolisme glikosida steviol melibatkan banyak metabolit sekunder dimana beberapa diantaranya sudah diketahui penting secara biologis untuk tanaman *Stevia* itu sendiri. Teknik biologi molekuler saat ini dapat dimanfaatkan untuk peningkatan produksi senyawa glikosida steviol misalnya dengan meningkatkan pasokan precursor, menginduksi

overekspresi atau meningkatkan efisiensi enzim-enzim kunci serta mengubah kontrol ekspresi gen terkait.

Hasil penelitian dari berbagai ilmuwan membuktikan belasan gen terlibat dalam pembentukan glikosida seperti *DXS*, *DXR*, *CMS*, *CMK*, *MCS*, *HDS*, *HDR*, *GGDPS*, *CDPS*, *KS*, *KO*, *KAH*, *UGT85C2*, *UGT74G1* dan *UGT76G1* [5-7]. Unikny, belasan gen tersebut dapat diinduksi oleh perlakuan eksogen dari GA3 yang memperlihatkan bahwa kontrol biosintesis glikosida steviol juga dikendalikan oleh hormon GA meskipun sebagai kompetitor metabolisme [8]. Di sisi lain, aplikasi isosteviol ternyata memberikan efek seperti aplikasi GA3 pada tanaman yang menginduksi biosintesis glikosida steviol [9]. Pendekatan lebih luas menggunakan analisis transkriptomika *via* sekuensing mRNA total dari tanaman *Stevia* menunjukkan sebanyak 143 unigen *UDP-glucosyltransferase (UGT)* diperkirakan terlibat dalam biosintesis glikosida steviol [10].



Ilustrasi jalur biosintesis glikosida steviol pada berbagai kompartemen seluler [3].

Hasil analisis secara biologi molekuler tersebut dilengkapi dengan fakta bahwa ekspresi gen-gen tersebut terjadi pada berbagai kompartemen seluler yang berbeda. Ekspresi gen-gen tersebut juga dikendalikan oleh faktor epigenetis *via* RNA mikro (*miRNA*) [11]. Hal tersebut menunjukkan bahwa kontrol biosintesis glikosida steviol tidaklah sederhana sehingga sulit menentukan satu atau dua gen yang dianggap kunci dalam rekayasa genetika [12].

Kerumitan dalam melakukan rekayasa genetika melalui *single* atau *multiple directed mutagenesis* pada tanaman *Stevia* mengarahkan para ilmuwan untuk menggunakan pendekatan mutagenesis melalui induksi. Mutasi terinduksi yang dihasilkan dari perlakuan etil metanasulfonat (EMS) atau radiasi gamma akan menghasilkan mutasi genom yang terjadi secara acak. Ilmuwan kemudian memilih galur-galur tanaman *Stevia* dari ratusan bahkan ribuan tanaman hasil mutasi. Seleksi tanaman mutan umumnya didasarkan pada karakter

tanaman yang sudah diperkirakan sebelumnya seperti kandungan glikosida steviol yang tinggi [13].

Referensi

1. Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, Ah-Hen K. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry*. 2012;132(3).
2. Tadhani MB, Patel VH, Subhash R. *In vitro* antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2007;20(3):323-9.
3. Brandle JE, Telmer PG. Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry*. 2007;68(14):1855-63.
4. Bondarev NI, Sukhanova MA, Reshetnyak OV, Nosov AM. Steviol Glycoside Content in Different Organs of *Stevia rebaudiana* and Its Dynamics during Ontogeny. *Biologia Plantarum*. 2003;47(2):261-4.
5. Modi A, Kumar N, Narayanan S. Transcript Quantification of Genes Involved in Steviol Glycoside Biosynthesis in *Stevia rebaudiana* Bertoni by Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). In: Jain SM, editor. *Protocols for In Vitro Cultures and Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants*, Second Edition. New York, NY: Springer New York; 2016. p. 289-301.
6. Guleria P, Yadav SK. Overexpression of a glycosyltransferase gene *SrUGT74G1* from *Stevia* improved growth and yield of transgenic *Arabidopsis* by catechin accumulation. *Molecular Biology Reports*. 2014;41(3):1741-52.
7. Guleria P, Masand S, Yadav SK. Overexpression of *SrUGT85C2* from *Stevia* reduced growth and yield of transgenic *Arabidopsis* by influencing plastidial MEP pathway. *Gene*. 2014;539(2):250-7.
8. Kumar H, Kaul K, Bajpai-Gupta S, Kaul VK, Kumar S. A comprehensive analysis of fifteen genes of steviol glycosides biosynthesis pathway in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Gene*. 2012;492(1):276-84.
9. Karimi M, J Hashemi, A Ahmadi, A Abbas, M Esfahani. Study on the bioactivity of steviol and isosteviol in stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Acta Physiol Plant*. 2014; 36:3243–3248
10. Chen J, Hou K, Qin P, Liu H, Yi B, Yang W, et al. RNA-Seq for gene identification and transcript profiling of three *Stevia rebaudiana* genotypes. *BMC Genomics*. 2014;15(1):571.
11. Guleria P, Yadav SK. Identification of miR414 and Expression Analysis of Conserved miRNAs from *Stevia rebaudiana*. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. 2011;9(6):211-7.
12. Khan SA, Ur Rahman L, Shanker K, Singh M. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transgenic plant and somaclone production through direct and indirect regeneration from leaves in *Stevia rebaudiana* with their glycoside profile. *Protoplasma*. 2014;251(3):661-70.
13. Khan SA, Rahman Lu, Verma R, Shanker K. Physical and chemical mutagenesis in *Stevia rebaudiana*: variant generation with higher UGT expression and glycosidic profile but with low photosynthetic capabilities. *Acta Physiol Plant*. 2016;38(1):1-12.