

Peningkatan Biosintesis Terpenoid pada Kultur Sel Lini Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan Elisitasi dan Pemberian Prekursor

Frisca Damayanti

17/417024/PBI/1461

Intisari

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa ekstrak daun dan suspensi sel jeruk purut berpotensi sebagai antikanker. Untuk memperdalam penelitian sebelumnya dan sebagai upaya untuk meningkatkan senyawa bioaktif khususnya terpenoid, perlu dilakukan seleksi sel lini untuk menyeleksi sel yang dapat memproduksi senyawa terpenoid sehingga mempunyai efek sitotoksitas yang lebih tinggi. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk seleksi sel lini adalah penambahan elisitor dan prekursor konsentrasi tinggi. Selanjutnya, untuk membuktikan mekanisme biosintesis terpenoid pada sel lini, kami menganalisis ekspresi gen FPPS, yaitu gen penyandi enzim farnesyl diphosphate synthase yang merupakan salah satu enzim yang berperan dalam biosintesis senyawa terpenoid. Tujuan penelitian ini adalah menyeleksi sel lini jeruk purut dan menganalisis ekspresi gen FPPS. Penelitian dimulai dengan dilakukannya induksi kalus, kemudian mengkultur kalus ke dalam kultur suspensi sel. Seleksi sel lini dilakukan dengan perlakuan pemberian elisitor *S. cerevisiae* 10 mg/ml (SC), Fermipan 5 mg/ml (F5) dan 10 mg/ml (F10) serta prekursor Isopentenil pirofosfat 10 µg/ml (IPP). Setelah didapatkan sel lini dilakukan analisis senyawa bioaktif dengan GCMS. Terakhir dilakukan RT-PCR untuk analisis ekspresi gen FPPS pada kalus dan suspensi sel. Hasil yang didapatkan adalah terjadi pengurangan jumlah sel sebesar 40,4% pada perlakuan F5 dan IPP, 38% pada perlakuan SC, dan 35% pada perlakuan F10. Hal ini mengindikasikan adanya proses seleksi sel lini. Perlakuan F5 dan SC mampu menghasilkan sel lini yang mengandung lebih banyak jenis senyawa bioaktif khususnya terpenoid dibandingkan dengan kontrol, namun tidak pada perlakuan F10 dan IPP. Analisis ekspresi gen FPPS pada sampel kalus G0 fase awal stasioner, kalus G1 fase awal stasioner, suspensi fase eksponensial, dan suspensi fase awal stasioner mengekspresikan gen FPPS.

Kata kunci: antikanker, *Citrus hystrix* DC., elisitasi, GCMS, prekursor

Enhancement of Terpenoids Biosynthesis on Kaffir Lime (*Citrus hystrix* DC.) Cell Line Culture with Elicitation and Precursor Addition

Frisca Damayanti

17/417024/PBI/1461

Abstract

Previous study has proven that leaf and cell suspension of kaffir lime extract have potential as anticancer. These results warrant further investigation about biosynthesis of bioactive compounds, especially terpenoids. Therefore we conducted cell line screening to select the kaffir lime cells that can produce more terpenoids hence they have a higher cytotoxicity to cancer cell. One method that can be used for cell line selection are elicitation and precursor addition. Furthermore, to determine the mechanism of terpenoids biosynthesis in cells line, we analyzed the FPPS gene. This gene codes farnesyl diphosphate synthase enzyme, which is one of the enzymes that play a role in the terpenoids biosynthesis. The purposes of the study were to select of kaffir lime line cells and analyze the FPPS gene expression. Firstly we induced callus from kaffir lime seed, then callus were cultured into cell suspension. Cell line selection was conducted by giving 10 mg/ml *S. cerevisiae* (SC), 5 mg/ml or 10 mg/ml Fermipan (commercial yeast) as elicitor and 10 µg/ml Isopentenyl pyrophosphate (IPP) as precursor. After obtaining cells line, we analyzed the profile of bioactive compounds by GCMS to determine the ability of each cell lines in producing bioactive compounds. Finally, RT-PCR was conducted for the analysis of FPPS gene expression in callus and cell suspension. Result showed the number of kaffir lime cells decrease after being treated in the Fermipan 5 mg/mL (F5), IPP, SC, and Fermipan 10 mg/mL (F10) were 40,4%, 38%, 35% respectively indicating cell line selection was successfully carried out. F5 and SC treatments were able for producing line cells containing more types of bioactive compounds, especially terpenoids compared to controls, but not by F10 and IPP treatment. Analysis of FPPS gene expression showed that in the initial stationary phase of G0 callus, initial stationary phase of G1 callus, exponential phase of cell suspension, and initial stationary phase of cell suspension express the FPPS gene.

Keywords: anticancer, *Citrus hystrix* DC., elicitor, GCMS, precursor