

# **Stabilitas Genetik pada Tiga Generasi Kultur Kalus Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan Perlakuan Tiga Variasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh**

Oleh

Agnes Iskandar

15/377216/BI/09383

## **INTISARI**

Tanaman jeruk purut diketahui memiliki aktivitas antioksidan, aktivitas antimikroba, dan mampu mengurangi viabilitas sel kanker serviks. Oleh karena itu, jeruk purut berpotensi sebagai bahan obat alami. Teknik kultur jaringan digunakan untuk menghasilkan jeruk purut sebagai bahan obat dengan keseragaman yang baik. Penelitian ini merupakan penelitian bersama yang bertujuan untuk menghasilkan kalus jeruk purut yang bersifat remah untuk dijadikan suspensi sel dan disimpan sebagai stok kalus. Namun, subkultur berulang diperlukan untuk menjaga viabilitas kalus. Variasi genetik pada sel kultur kalus jeruk purut dimungkinkan terjadi melalui subkultur berulang yang cukup panjang. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melihat stabilitas genetik kalus jeruk purut yang ditumbuhkan pada 3 generasi menggunakan medium MS dengan variasi konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4-D:BAP. Pertama, dilakukan induksi kalus menggunakan biji jeruk purut, kalus selanjutnya disubkultur hingga generasi ketiga. Kalus diamati morfologinya sebelum dilakukan isolasi DNA. Isolasi DNA dilakukan menggunakan kalus yang mencapai fase eksponensial dari semua perlakuan medium dan semua generasi kemudian dilakukan PCR untuk analisis stabilitas genetik dengan metode ISSR yang menggunakan 5 primer. Gen *tnrl-F* digunakan sebagai *housekeeping gene*. Terakhir dilakukan teknik elektroforesis untuk melihat pita-pita DNA yang terbentuk. Hasil yang didapat menunjukkan adanya perubahan fenotip berupa perubahan morfologi pada kalus biji jeruk purut baik antar generasi maupun antar variasi ZPT. Sementara itu, pada level genotip, pita DNA yang terbentuk tidak menunjukkan adanya perubahan jumlah maupun lokus baik antar perlakuan medium maupun antar generasi. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kalus biji jeruk purut mengalami perubahan pada level fenotip (morfologi) namun pada level genotip, kalus jeruk purut memiliki kestabilan genetik.

Kata kunci: *Citrus hystrix* D.C., ISSR, antikanker, stabilitas genetik

**Genetic Stability in Three Generations of Kaffir Lime (*Citrus hystrix* DC.)  
Callus Culture Grown in Medium Supplemented with Three Concentrations  
of Growth Regulator**

by

Agnes Iskandar

15/377216/BI/09383

**ABSTRACT**

Kaffir lime are known to have antioxidant activity, antimicrobial activity, and can reduce the viability of cervical cancer cells. Therefore, kaffir lime has the potential as a natural medicinal ingredient. Tissue culture technique is used to produce high uniformity of kaffir lime as natural medicine. This study is a joint research that aims to produce crumb callus which is crumb enough to be used as cell suspension and callus which are compact enough to be stored as callus stock. However, in maintaining callus viability, repeated subcultures need to be performed. Repeated subcultures that are long enough provide the possibility of genetic variation in kaffir lime callus. Therefore, this study aims to look at the genetic stability of kaffir lime callus grown in 3 generations using MS medium with variations in the concentration of growth regulators 2,4-D: BAP. First, callus induction was carried out using kaffir lime seeds, then callus was subcultured until the third generation. The callus morphology was observed before DNA isolation was carried out. The DNA extraction was obtained using kaffir lime seed callus on the exponential phase of all medium treatments and all generations. The concentration of extracted DNA was diluted to 70 ng/uL, then ISSR-PCR amplification was conducted. Finally, electrophoresis techniques were performed to visualize DNA bands. The results obtained indicate a phenotype change in the form of morphological in kaffir lime seed callus either among-generations callus and growth hormone variation treatment. Meanwhile, at the genotypic level, the DNA bands did not show any change in number or DNA locus in different growth hormone concentration medium treatments and among generations. This showed that although the callus of kaffir lime seeds has changed at the level of phenotype (morphology), but at the level of genotype, kaffir lime callus has genetic stability.

**Keywords:** *Citrus hystrix* D.C., ISSR, anticancer, genetic stability