Plants Tissue Culture in Producing Anticancer Compounds: Review Article

Intan T. Maisyarah*, Nurfianti Silvia

Department of Biological Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Padjadjaran, Indonesia

Submitted 31 December 2021; Revised 31 December 2021; Accepted 31 December 2021 ; Published 31 December 2021

*Corresponding author: intan.timur@unpad.ac.id

Abstract

Plant tissue culture is one of the main methods to supply the demand of anticancer drug derived from plants. Global demand for anticancer drugs from plants is very high, due to cancer is one of the main diseases that has the highest mortality rate in the world. This review article was written with the aim to summarize the latest developments plant tissue culture techniques to produce secondary metabolites with anticancer activity in the last 10 years. The method used to write this article is a literature review on the PubMed and Google Scholar database. The result showed that plant tissue culture techniques can increase the production of anticancer compounds derived from plants, especially through optimization of growth media, elicitation, and precursor feeding.

Keywords: Anticancer, elicitation, plant tissue cultures, precursor feeding, secondary metabolites

Kultur Jaringan Tanaman dalam Produksi Senyawa Antikanker: Artikel Ulasan

Abstrak

Kultur jaringan tumbuhan menjadi salah satu metode utama dalam memenuhi kebutuhan senyawa obat antikanker yang berasal dari tumbuhan. Permintaan global terhadap obat antikanker dari tumbuhan sangat tinggi, karena kanker merupakan salah satu penyakit utama yang memiliki tingkat kematian tertinggi di dunia. Artikel review ini ditulis dengan tujuan untuk merangkum perkembangan terkini dalam 10 tahun terakhir mengenai teknik kultur jaringan tanaman dalam menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antikanker. Metode yang digunakan dalam penulisan artikel ini yaitu literature review pada sumber basis data PubMed dan Google Scholar. Dari hasil penelusuran literatur tersebut diketahui bahwa teknik kultur jaringan tanaman dapat meningkatkan produksi senyawa antikanker yang berasal dari tumbuhan, terutama melalui optimasi media tumbuh, elisitasi, dan penambahan prekursor.

Kata Kunci: Antikanker, elisitasi, kultur jaringan tanaman, penambahan prekursor, metabolit sekunder

1. Pendahuluan

Kultur jaringan tanaman adalah serangkaian teknik yang dirancang dengan menggunakan larutan bernutrisi dalam lingkungan aseptis yang terkendali, untuk tujuan perbanyak tanaman, dan penggandaan sel atau jaringan tanaman.¹ Teknik ini dikembangkan berdasarkan sifat totipotensi tanaman, yaitu setiap bagian tanaman bisa memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh.² Jika dibandingkan dengan perbanyak tanaman secara konvensional, teknik perbanyak secara kultur jaringan memiliki kelebihan, di antaranya yaitu membutuhkan tempat yang tidak luas, masa penanaman tidak tergantung oleh musim, dan menghasilkan bibit tanaman yang bebas penyakit dalam jumlah banyak dan waktu relatif singkat.³

Dalam dunia medis, kultur jaringan tanaman saat ini menjadi cara yang efisien untuk memproduksi senyawa obat yang berasal dari tanaman.⁴ Berbagai metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman dilaporkan memiliki efek terapeutik untuk beragam penyakit, seperti antiinflamasi, pengobatan infeksi, antimalaria, dan antikanker. Khusus untuk pengobatan kanker, berbagai macam obat antikanker yang banyak digunakan dalam kemoterapi berasal dari tanaman. Paklitaksel, kamptotekin, dan alkaloid vinka adalah beberapa contoh metabolit sekunder tanaman yang sudah digunakan secara luas dalam pengobatan kanker.^{5,6} Secara global, paklitaksel menjadi lini pertama dalam pengobatan kanker payudara, ovarium, beberapa kanker paru-paru dan kanker jenis lainnya.⁷

Kanker merupakan salah satu penyakit utama yang memiliki tingkat kematian tertinggi. WHO menyebutkan bahwa kanker menjadi penyebab kematian nomor dua di dunia pada tahun 2018.⁸ Karena penggunaannya yang luas sebagai pengobatan kemoterapi berbagai jenis kanker, permintaan terhadap obat antikanker yang berasal dari tanaman jauh melebihi ketersediaannya.⁹ Saat ini kultur jaringan menjadi salah satu teknik yang digunakan untuk meningkatkan pasokan senyawa antikanker untuk kebutuhan

kemoterapi.⁵ Artikel review ini merangkum perkembangan teknik kultur jaringan tanaman dalam menghasilkan senyawa antikanker yang berasal dari tanaman dalam 10 tahun terakhir. Disamping itu, juga ditelusuri strategi yang sudah dilakukan untuk peningkatan produksi senyawa sitotoksik dalam teknik kultur jaringan.

2. Metode

Pencarian literatur berupa research article dilakukan untuk mendapatkan data-data yang berkaitan dengan produksi metabolit sekunder dari tanaman yang memiliki aktivitas sebagai antikanker, dan strategi peningkatan produksi metabolit sekunder tersebut dalam kultur jaringan tanaman. Proses pencarian literatur dilakukan melalui PubMed dan Google Scholar dengan kata kunci "*Plant tissue culture*", "*Production secondary metabolites*", "*Callus culture*", "*Cell suspension culture*", dan "*Anticancer*". Research article yang terbit dalam 10 tahun terakhir dikumpulkan dan informasinya dirangkum ke dalam artikel ini.

3. Hasil

3.1. Teknik umum kultur jaringan tanaman

Teknik kultur jaringan memerlukan media yang mengandung makronutrien, mikronutrien, suplemen organik atau vitamin, sumber karbon, dan zat pengatur tumbuh agar kultur dapat tumbuh dalam kondisi optimal.^{1,10,11} Sumber karbon dibutuhkan karena proses fotosintesis sel dalam kultur pada umumnya tidak aktif, sehingga dibutuhkan pasokan karbon dari media yang umumnya berasal dari sukrosa atau glukosa sebanyak 2-5%.¹¹ Hormon pertumbuhan dari golongan auksin dan sitokinin yang paling umum digunakan dalam metode kultur jaringan. Auksin berfungsi dalam pembentukan akar dan kuncup samping, sedangkan sitokinin berperan dalam pengaturan pembelahan sel serta morfogenesis. Zat pengatur tumbuh golongan auksin yang paling banyak digunakan yaitu 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D), asam naftalen asetat (NAA), asam indol butirat (IBA), dan asam indol asetat (IAA). Sedangkan dari golongan sitokinin, hormone yang paling

banyak digunakan yaitu benzil aminopurin (BAP) dan kinetin (KIN).¹⁰

Media kultur jaringan bergantung pada jenis tanaman, tujuan, serta jenis jaringan tanaman kultur. Media dasar yang paling banyak digunakan yaitu Murashige dan Skoog (MS) yang diketahui memiliki kandungan garam anorganik nitrat, potasium, dan amonium paling tinggi dibandingkan dengan media tumbuh lainnya.¹² Media B5 yang dikembangkan Gamborg et al (1968) memiliki kandungan garam mineral dan sukrosa dengan konsentrasi amonium yang rendah.¹³

Untuk meningkatkan produksi senyawa yang diinginkan pada kultur jaringan tanaman, beberapa strategi dapat dilakukan untuk meningkatkan aktivitas biosintesis metabolit sekunder. Cara yang umum dilakukan yaitu elisitasi dan penambahan senyawa prekursor atau *precursor feeding*. Elisitasi adalah penggunaan elisitor yang dapat menstimulasi respon stres pada tumbuhan, dengan tujuan untuk meningkatkan produktivitas metabolit sekunder.¹⁴ Elisitor yang sering digunakan

umumnya yaitu metil jasmonat, asam salisilat, kitin, chitosan, ekstrak ragi, dan pektin. Sedangkan pada *precursor feeding*, senyawa prekursor pada rute biosintesis metabolit target ditambahkan ke dalam media kultur tanaman, sehingga produksi metabolit akhir yang diinginkan meningkat.¹⁵

3.2. Senyawa antikanker dari kultur jaringan tanaman

Beberapa obat antikanker yang sudah beredar di pasaran saat ini sudah diproduksi secara kultur jaringan, baik melalui kultur suspensi sel, kultur kalus, maupun kultur organ. Selain itu, teknik kultur jaringan juga sudah dikembangkan untuk menghasilkan senyawa sitotoksik yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antikanker seperti pada Gambar 1. Dalam 10 tahun terakhir, dilaporkan 6 jenis senyawa sitotoksik yang dikembangkan produksinya dengan metode kultur jaringan tanaman (Tabel 1).

3.2.1. Paklitaksel

Paklitaksel merupakan senyawa

Gambar 1. Struktur senyawa antikanker dari tanaman

Tabel 1. Senyawa antikanker/sitotoksik yang dihasilkan dengan metode kultur jaringan

Nama senyawa	Tumbuhan	Tipe Kultur	Media	Kondisi Kultur	Elisitor/prekursor	Peningkatan kadar (%)
Paklitaksel	<i>Taxus cuspidata</i>	Kultur suspensi sel	Media B5 modifikasi (tanpa ammonium sulfat, kalium nitrat diturunkan menjadi 10 mM), 20 g/L sukrosa, 3 g/L kasein hidrolisat, 0,91 μ M 2,4-D, dan 0,11 μ M NAA. ¹⁶	Gelap, suhu 25°C, 120 rpm	Metil jasmonat (100 μ mol), asam salisilat (20 mg/L), fenilalanin (400 mg/L) dan asam giberelat (2 mg/L). ¹⁷	11,57%
	<i>Taxus baccata</i>	Kultur kalus	Media B5, 3 mg/L 2,4-D, 0,5 mg/L kinetin, 0,5 mg/L asam giberelat, 30 g/L sukrosa, 8 g/L agar. ¹⁸	Gelap, suhu 25°C	5 μ M asam salisilat, 2% glukosa. ¹⁸ PEG 3%. ¹⁹	5x 2,5 x
Kampto tekin	<i>Nothaphytis nimmoniana</i>	Kultur kalus	Media MS, 2 mg/L NAA, 1 mg/L BAP, 8 g/L agar. ²⁰	Gelap, suhu 25°C, 120 rpm	50 mg/L ekstrak ragi, 25 mg/L vanadil sulfat. ²⁰	4,2x 3,03x
	<i>Ophiorrhiza mungos var. angustifolia</i>	Kultur tunas	Media MS setengah konsentrasi, 3% sukrosa, 8,8 μ M BA, 8 g/L agar. ²¹	Cahaya 16 jam/hari, 25°C	150 μ M metil jasmonat. ²¹	7x
	<i>Ophiorrhiza mungos var. angustifolia</i>	Kultur suspensi sel	Media MS setengah konsentrasi, 3% sukrosa, 3 mg/L NAA, 1 mg/L 2,4-D, 0,5 mg/L kinetin (22)	Cahaya 12 jam/hari, 25°C, 90 rpm	50 μ M asam jasmonat. ²²	18x
Vinblastin dan vinkristin	<i>Catharanthus roseus</i>	Kultur suspensi sel	Media MS, 3% sukrosa, 0,5 mg/L NAA, 0,5 mg/L BAP. ²³	Gelap, 25°C, 100 rpm	20 μ g/L hidrogen peroksida, 5 mg/L asetil CoA, 0.5 μ mol/L benzotriazol, 100 mg/L triptofan, 100 mg/L loganin 30 mg/L serum klorida. ²³ 0,15% ekstrak jamur <i>Aspergillus flavus</i> . ²⁴	15,5% (vinblastin) 7,8% (vinkristin)
Ruskogenin	<i>Ruscus aculeatus</i>	Kultur kalus	Media MS, 3% sukrosa, 0,5 mg/L 2,4-D, 0,05 g/L BAP, 0,27% Phytigel ²⁵	Cahaya 16 jam/hari, 25°C	1 μ M koronatin. ²⁵	1,3x
Nitidin	<i>Toddalia asiatica</i>	Kultur kalus	Media MS, 0,5 mg/L, 2,4-D, 1 mg/L BAP ²⁶	Cahaya 8 jam/hari, 25°C		

Catatan: (a): Dibandingkan dengan kontrol kultur tanpa elisitasi; (b): Tidak ada perbandingan dengan kontrol

golongan diterpenoid yang sudah digunakan sebagai obat antikanker utama dalam pengobatan berbagai jenis penyakit kanker. Pada kondisi alami, paklitaksel dihasilkan oleh tumbuhan dalam jumlah yang sangat kecil yaitu 0,001-0,05%.²⁷ Saat ini, metode yang paling ekonomis untuk menghasilkan paklitaksel adalah menggunakan teknik kultur jaringan tanaman dari genus *Taxus* (Taxaceae) seperti kultur suspensi sel *Taxus cuspidata*¹⁶ dan kultur kalus *Taxus baccata*.¹⁸

Teknik kultur jaringan terus dikembangkan untuk meningkatkan produksi paklitaksel tanaman genus *Taxus*. Media yang digunakan untuk kultur suspensi sel *T. cuspidata* yaitu Gamborg B5 yang dimodifikasi, dengan menghilangkan amonium sulfat dan kalium nitrat, 20 g/L sukrosa dan 3 g/L kasein hidrolisat. Hormon pertumbuhan yang digunakan yaitu 0,91 μM 2,4-D dan 0,11 μM NAA.¹⁶ Produksi paklitaksel meningkat sebesar 11,57% diperoleh dengan menambahkan elisitor dan prekursor pada kultur suspensi sel *T. cuspidata*, yaitu metil jasmonat, asam salisilat, fenilalanin dan asam giberelat masing-masing 100 μmol , 20 mg/L, 400 mg/L dan 2 mg/L. Kondisi tumbuh ini menghasilkan lebih 4 mg paklitaksel dalam tiap 1 liter kultur.^{17,18}

Cara lain untuk memproduksi paklitaksel yaitu kultur kalus *T. baccata* menggunakan media Gamborg B5 dengan penambahan 3 mg/L 2,4-D, 0,5 mg/L kinetin, 0,5 mg/L asam giberelat, 30 g/L sukrosa, dan 8 g/L agar (18). Penambahan elisitor 5 μM asam salisilat dan 2% glukosa menunjukkan peningkatan produksi paklitaksel 5 kali lipat dibanding kontrol. Penelitian lebih lanjut oleh Sarmadi et al. (2019) melaporkan penambahan elisitor polietilen glikol (PEG) sebanyak 3% ke dalam kultur kalus *T. baccata* meningkatkan produksi paklitaksel sebanyak 2,5 kali lipat.¹⁹

3.2.2. Kamptotekin

Kamptotekin adalah metabolit golongan alkaloid kuinolin yang terbukti efektif dalam pengobatan kanker payudara, kolorektal dan paru-paru.²⁸ Beberapa spesies tanaman dilaporkan menghasilkan kamptotekin dalam jumlah yang sangat kecil, yaitu 0,2 sampai

5 mg/g berat kering.^{21,29} Metode kultur jaringan tanaman yang sudah dikembangkan terhadap tanaman *Nothapodytes nimmoniana* (Icacinaceae).²⁰ dan *Ophiorrhiza mungos* var. *angustifolia* (Rubiaceae) untuk memproduksi kamptotekin melalui teknik kultur tunas dan kultur suspensi sel.^{21,22}

Kamptotekin dihasilkan dari kultur kalus *N. nimmoniana* menggunakan media padat MS yang ditambahkan hormon pertumbuhan 2 mg/L NAA dan 1 mg/L 6-BAP. Peningkatan produksi kamptotekin diperoleh dengan cara elisitasi, yaitu sebanyak 4,2 kali lipat setelah ditambahkan 50 mg/L ekstrak ragi. Sementara itu, produksi kamptotekin meningkat sebanyak 3,03 kali lipat setelah penambahan 25 mg/L vanadil sulfat ke dalam kultur kalus *N. nimmoniana*.²⁰ Media yang digunakan untuk memproduksi kamptotekin pada kultur tunas *O. mungos* var. *angustifolia* adalah setengah konsentrasi media padat MS yang ditambahkan 3% sukrosa, dan 8,8 μM BA. Peningkatan metabolit sekunder dengan cara elisitasi terhadap kultur tunas *O. mungos* var. *angustifolia* menghasilkan kamptotekin dengan kelimpahan tujuh kali lipat dengan penambahan elisitor 150 μM metil jasmonat dengan masa inkubasi 72 jam.²¹ Sedangkan jika ditumbuhkan dengan metode kultur suspensi sel, peningkatan produksi kamptotekin sebanyak bisa mencapai 18 kali lipat dengan penambahan 50 μM asam jasmonat sebagai elisitor.²²

3.2.3. Vinkristin dan vinblastin

Senyawa antikanker vinkristin dan vinblastin digunakan dalam kemoterapi pasien leukimia, kanker payudara, hodgkins/non-hodgkins lymphoma dan tumor sel germinal.³⁰ Kedua senyawa ini berasal dari tumbuhan *Catharanthus roseus* (Apocynaceae), dan juga dikenal sebagai alkaloid vinka. Kultur suspensi sel *C. roseus* ditumbuhkan menggunakan media MS dengan konsentrasi sukrosa 3%, dan hormon pertumbuhan 0,5 mg/L NAA, dan 0,5 mg/L BA.^{23,31}

Produksi vinkristin dan vinblastin dapat ditingkatkan dengan cara penambahan asam jasmonat, metil ester jasmonat, dan etilen sebagai elisitor yang dapat mengaktifkan

faktor transkripsi gen yang berperan dalam biosintesisnya.³² Tonk et al. (2016) melaporkan penggunaan ekstrak jamur *Aspergillus flavus* sebanyak 0,15% dapat meningkatkan produksi vinkristin dan vinblastin sebanyak 7,88% dan 15,5%.²⁴ Peningkatan produksi vinblastin diperoleh paling tinggi didapatkan setelah perlakuan elisitasi secara simultan dari beberapa jenis elisitor dan prekursor yaitu 20 µg/L hidrogen peroksida, 5 mg/L asetil CoA, 0,5 µmol/L benzotriazol, 100 mg/L triptofan, 100 mg/L loganin, dan 30 mg/L serum klorida. Dengan perlakuan elisitasi ini jumlah vinblastin dilaporkan meningkat >8000x lebih banyak dibandingkan kadarnya pada tumbuhan alami *C. roseus*.²³

3.2.4. Ruskogenin

Ruskogenin adalah senyawa dari golongan steroid sapogenin yang dihasilkan oleh tanaman *Ruscus aculeatus* (Liliaceae). Senyawa ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker berdasarkan sifatnya yang sitotoksik terhadap karsinoma hepatoseluler.³³ Sebagai senyawa yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai senyawa obat, produksi ruskogenin baru-baru ini sudah mulai dikembangkan melalui teknik kultur kalus yang diinduksi dari embrio *R. aculeatus* pada media MS yang ditambahkan 0,5 mg/L 2,4-D dan 0,05 g/L BAP (25). Namun tidak terdapat peningkatan yang berarti terhadap produksi ruskogenin dari kultur kalus *R. aculeatus* setelah penambahan elisitor dan prekursor umum digunakan. Peningkatan produksi ruskogenin yang cukup baik diperoleh dengan mencoba penambahan elisitor jenis baru yaitu koronatin. Dari elisitasi menggunakan 1 µM koronatin diperoleh produksi ruskogenin meningkat sebanyak 30% dibandingkan kontrol.²⁵

3.2.5. Nitidin

Nitidin adalah senyawa sitotoksik dari golongan alkaloid benzofenantridin yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai antikanker. Senyawa ini dihasilkan oleh tanaman *Toddalia asiatica* (Rutaceae), yaitu tanaman obat yang sudah digunakan secara tradisional dalam pengobatan seperti

malaria, neuropati, anti-inflamasi dan penyakit lainnya.^{34,35} Nitidin klorida dilaporkan menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker paru-paru.³⁶ Nitidin dihasilkan oleh *T. asiatica* pada kondisi alami dalam kadar yang sangat rendah yaitu 0,0002%.³⁵ Kultur kalus *T. asiatica* yang ditumbuhkan pada media MS dengan penambahan 0,5 mg/L 2,4-D dan 1 mg/L BAP menghasilkan jumlah nitidin yang meningkat 15 kali lipat dibanding tanaman alami.²⁶ Sampai saat ini belum ditemukan laporan terbaru mengenai upaya untuk meningkatkan produksi nitidin dari kultur tanaman *T. asiatica*, baik dengan cara elisitasi atau metode lainnya.

4. Pembahasan

Teknik kultur jaringan tanaman berperan penting dalam menyediakan kebutuhan masyarakat akan berbagai senyawa antikanker. Kanker sebagai penyakit global yang memiliki tingkat kematian tertinggi menyebabkan angka permintaan obat antikanker dengan jumlah yang besar. Namun obat-obatan antikanker yang berasal dari tanaman umumnya hanya dihasilkan dalam kadar yang sangat kecil pada kondisi tumbuh alami. Kultur jaringan tanaman dapat menjadi bioreaktor untuk memproduksi senyawa obat dalam jumlah yang lebih banyak, karena kondisi tumbuh dari tanaman dapat dikontrol dan dioptimalkan dengan pengaturan media tumbuh yang sesuai. Jenis media yang paling banyak digunakan untuk menumbuhkan tanaman penghasil senyawa antikanker adalah media MS dan B5. Walaupun kedua jenis media ini sudah dikembangkan dalam waktu yang sangat lama, namun keduanya masih relevan dan digunakan luas sampai saat ini untuk berbagai jenis tanaman.

Kultur kalus dan kultur suspensi sel menjadi teknik yang paling banyak digunakan dalam memproduksi senyawa antikanker. Pemilihan jenis kultur ini sesuai dengan kelebihanannya yang dapat memberikan hasil panen yang jauh lebih cepat dan proses pasca panen yang lebih sederhana.³⁷ Kultur suspensi sel *O. mungos* var *angustifolia* terbukti menghasilkan kampoatekin lebih banyak dibanding kultur tunas dari tanaman yang sama. Optimasi

hormon pertumbuhan dari kombinasi auksin dan sitokinin menjadi tahapan kunci untuk memperoleh kalus yang kemudian dapat dikembangkan menjadi kultur suspensi sel.

Hambatan dalam memproduksi metabolit sekunder tanaman secara kultur jaringan umumnya terjadi pada pencarian media dan pemilihan hormon pertumbuhan optimum. Tantangan ini terutama terjadi dalam tahap awal pengembangan metode kultur seperti pada pengembangan metode kultur jaringan untuk memproduksi senyawa sitotoksik ruskogenin dan nitidin. Laporan mengenai perkembangan teknik kultur jaringan terhadap tanaman penghasil kedua senyawa sitotoksik ini masih terbatas, karena kombinasi hormon pertumbuhan masih belum optimal.

Dari keenam senyawa antikanker yang diulas, terlihat bahwa penambahan elisitor dan prekursor masih menjadi strategi utama untuk meningkatkan produksi senyawa obat. Elisitor yang paling banyak digunakan yaitu dari jenis elisitor biotik seperti metil jasmonat. Metil jasmonat terbukti dapat meningkatkan produksi paklitaksel dan kamptotekin dalam jumlah yang signifikan. Hubungan elisitor dengan peningkatan produksi metabolit sekunder sampai saat ini masih belum dipahami secara jelas karena kerumitan reaksi biokimia dan regulasinya dalam jalur biosintesis metabolit sekunder sangat spesifik dan kompleks. Oleh karena itu pemilihan elisitor dan penambahan prekursor yang tepat menjadi tidak mudah. Kombinasi senyawa prekursor dan elisitor biotik dan abiotik digunakan untuk meningkatkan produksi alkaloid vinka pada kultur suspensi sel *C. roseus*, namun peningkatan produksi yang diperoleh tidak begitu signifikan. Pencarian elisitor baru juga sudah dilakukan untuk meningkatkan produksi ruskogenin, namun hasilnya masih belum optimal.

Oleh karena itu, perlu diformulasikan strategi baru dalam menyusun pengembangan metode kultur jaringan tanaman. Contohnya dalam pencarian media yang tepat untuk kelompok tanaman tertentu. Begitu juga dalam pemilihan elisitor dan prekursor, bisa dilakukan kajian mendalam pengaruh berbagai jenis

elisitor dan prekursor terhadap jenis maupun golongan metabolit sekunder. Sampai saat ini penambahan elisitor dan prekursor terbukti masih menjadi strategi yang berhasil dan terjangkau untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder. Oleh karena itu, perlu juga dicari alternatif elisitor baru yang belum pernah digunakan, yang diharapkan dapat meningkatkan produksi metabolit target.

5. Simpulan

Dari pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa kultur jaringan tanaman dapat digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder sebagai antikanker. Didukung dengan nilai pasar yang tinggi, senyawa antikanker yang berasal dari tanaman sangat penting untuk diperbanyak produksinya secara *in vitro* melalui kultur jaringan tanaman. Kultur jaringan sudah terbukti dapat meningkatkan produksi senyawa antikanker yang umum digunakan seperti paklitaksel, kamptotekin, vinkristin, dan vinblastin. Peningkatan produksi senyawa antikanker secara umum dilakukan dengan cara penambahan elisitor dan prekursor. Namun pengembangan metode kultur jaringan untuk senyawa sitotoksik yang berpotensi menjadi sebagai senyawa obat baru masih terkendala dalam pengembangan di tahap awal, terutama dalam pemilihan media, hormon pertumbuhan dan elisitor atau prekursor yang sesuai.

Daftar Pustaka

1. Loyola-vargas VM, Ochoa-alejo N. Chapter 1 An Introduction to Plant Cell Culture : The Future Ahead. 877:1–8.
2. Ramachandra Rao S, Ravishankar GA. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 2002;20(2):101–53.
3. Debnath M, Malik C, Bisen P. Micropropagation: A Tool for the Production of High Quality Plant-based Medicines. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2006;7(1):33–49.
4. Fischer R, Vasilev N, Twyman RM, Schillberg S. High-value products from plants: the challenges of process optimization. *Current Opinion in Biotechnology*. 2015

- Apr 1;32:156–62.
5. Dabuwar Benjamin E, Adamu Ishaku G, Andrew Peingurta F, Samuel Afolabi A. Callus Culture for the Production of Therapeutic Compounds. *American Journal of Plant Biology*. 2019;4(4):76.
 6. Fridlender M, Kapulnik Y, Koltai H. Plant derived substances with anti-cancer activity: From folklore to practice. *Frontiers in Plant Science*. 2015;6(OCTOBER):1–9.
 7. Zhu L, Chen L. Progress in research on paclitaxel and tumor immunotherapy. *Cellular and Molecular Biology Letters*. 2019;24(1):1–11.
 8. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. 394 CA: A Cancer Journal for Clinicians Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA CANCER J CLIN*. 2018;68:394–424.
 9. Iqbal J, Abbasi BA, Mahmood T, Kanwal S, Ali B, Shah SA, et al. Plant-derived anticancer agents: A green anticancer approach. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine [Internet]*. 2017;7(12):1129–50. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.10.016>
 10. Phillips GC, Garda M. Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. 2019;55(3):242–57.
 11. Smith RH. Media Components and Preparation. In: *Plant Tissue Culture*. 2013. p. 31–43.
 12. Murashige T, Skoog F. Murashige 1962 Revised. Pdf. *Physiologia Plantarum*. 1962;15:474–97.
 13. Gamborg OL, Miller RA, Ojima K. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*. 1968 Apr 1;50(1):151–8.
 14. Radman R, Saez T, Bucke C, Keshavarz T. Elicitation of plants and microbial cell systems. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2003;37(1):91.
 15. Yue W, Ming QL, Lin B, Rahman K, Zheng CJ, Han T, et al. Medicinal plant cell suspension cultures: Pharmaceutical applications and high-yielding strategies for the desired secondary metabolites. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2016;36(2):215–32.
 16. Yamamoto S, Hayashi S, Furusaki S, Shioya S. 5-Aminolevulinic acid promotes callus growth and paclitaxel production in light-grown *Taxus cuspidata* suspension cultures. *Engineering in Life Sciences*. 2015;15:115–21.
 17. Wang S, Li C, Wang H, Zhong X, Zhao J, Tong Y, et al. Effect of elicitors, precursors and metabolic inhibitors on paclitaxel production by *Taxus cuspidata* cell culture. *Journal of Forestry Research*. 2016;27(6):1257–63.
 18. Sarmadi M, Karimi N, Palazón J, Ghassempour A, Mirjalili MH. The effects of salicylic acid and glucose on biochemical traits and taxane production in a *Taxus baccata* callus culture. *Plant Physiology and Biochemistry [Internet]*. 2018; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.013>
 19. Sarmadi M, Karimi N, Palazón J, Ghassempour A, Hossein M. Improved effects of polyethylene glycol on the growth, antioxidative enzymes activity and taxanes production in a *Taxus baccata* L. callus culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) [Internet]*. 2019;0(0):0. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-019-01573-y>
 20. Isah T. Production of camptothecin in the elicited callus cultures of *Nothapodytes nimmoniana* (J. Graham) Mabberly. *Chemical Papers*. 2017;71(6):1091–106.
 21. Krishnan JJ, Gangaprasad A, Satheeshkumar K. Industrial Crops & Products Exogenous methyl jasmonate acts as a signal transducer in the enhancement of camptothecin (CPT) production from in vitro cultures of *Ophiorrhiza*. *Industrial Crops & Products [Internet]*. 2018;119(March):93–101. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.007>
 22. Deepthi S, Satheeshkumar K. Cell line selection combined with jasmonic acid elicitation enhance camptothecin production in cell suspension cultures

- of *Ophiorrhiza mungos* L. Applied Microbiology and Biotechnology [Internet]. 2016;(Namdeo 2007). Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-016-7808-x>
23. Yun ZG, Gong LM. Regulation of vinblastine biosynthesis in cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2013;112:43–54.
 24. Tonk D, Mehpara AM, Muzamil M, Nadia A. *Aspergillus flavus* fungus elicitation improves vincristine and vinblastine yield by augmenting callus biomass growth in *Catharanthus roseus*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2016;
 25. Khojasteh A, Sanchez-muñoz R, Moyano E, Bon M, Cusido RM, Eibl R, et al. Biotechnological production of ruscogenins in plant cell and organ cultures of *Ruscus aculeatus*. Plant Physiology and Biochemistry. 2019;141(May):133–41.
 26. Praveena C, Veeresham C. Benzophenanthridine Alkaloids from Callus Cultures of *Toddalia Asiatica*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology. 2015;8(December):3003–8.
 27. Howat S, Park B, Oh IS, Jin Y, Lee E, Loake GJ. Paclitaxel : biosynthesis , production and future prospects. New BIOTECHNOLOGY [Internet]. 2014;31(3):242–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2014.02.010>
 28. Martino E, della Volpe S, Terribile E, Benetti E, Sakaj M, Centamore A, et al. The long story of camptothecin: From traditional medicine to drugs. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters [Internet]. 2017;27(4):701–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.12.085>
 29. Ramesha BT, Amna T, Ravikanth G, Gunaga RP, Vasudeva R, Ganeshiah KN, et al. Prospecting for camptothecines from *Nothapodytes nimmoniana* in the Western Ghats, south India: Identification of high-yielding sources of camptothecin and new families of camptothecines. Journal of Chromatographic Science. 2008;46(4):362–8.
 30. Martino E, Casamassima G, Castiglione S, Cellupica E, Pantalone S, Papagni F, et al. Vinca alkaloids and analogues as anti-cancer agents: Looking back, peering ahead. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters [Internet]. 2018;28(17):2816–26. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.06.044>
 31. Zhou ML, Hou HL, Zhu XM, Shao JR, Wu YM, Tang YX. Molecular regulation of terpenoid indole alkaloids pathway in the medicinal plant, *Catharanthus roseus*. Journal of Medicinal Plants Research. 2011;5(5):663–76.
 32. Zhou M-L, Hou H-L, Zhu X-M, Shao J-R, Wu Y-M, Tang Y-X. Molecular regulation of terpenoid indole alkaloids pathway in the medicinal plant, *Catharanthus roseus*. Academic J. 2010;4(25):663–73.
 33. Hua H, Zhu Y, Song Y. Ruscogenin suppressed the hepatocellular carcinoma metastasis via PI3K / Akt / mTOR signaling pathway. Biomedicine & Pharmacotherapy [Internet]. 2018;101(February):115–22. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.031>
 34. Kariuki HN, Kanui TI, Yenesew A, Patel N, Mbugua PM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *toddalia asiatica* (L) Lam. (Rutaceae) root extract in Swiss albino mice. Pan African Medical Journal. 2013;14(L):3–7.
 35. Gakunju DMN, Mberu EK, Dossaji SF, Gray AI, Waigh RD, Waterman PG, et al. Potent antimalarial activity of the alkaloid nitidine, isolated from a Kenyan herbal remedy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1995;39(12):2606–9.
 36. Zhang J, Wu L, Lian C, Lian S, Bao S, Zhang J, et al. Nitidine chloride possesses anticancer property in lung cancer cells through activating Hippo signaling pathway. Cell Death Discovery [Internet]. 2020;6(91):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41420-020-00326-7>
 37. Schillberg S, Raven N, Fischer R, Twyman R, Schiermeyer A. Molecular

Farming of Pharmaceutical Proteins
Using Plant Suspension Cell and Tissue
Cultures. *Current Pharmaceutical Design*.
2013;19(31):5531–42.