

# PENGARUH CEKAMAN ABIOTIK TERHADAP EKSPRESI GEN DAN KONSENTRASI METABOLIT SEKUNDER PADA *Catharanthus roseus*

Nur Ahmad Rudin

Departemen Biologi Tropika, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Corresponding author: [nur.ahmad.rudin@mail.ugm.ac.id](mailto:nur.ahmad.rudin@mail.ugm.ac.id)

## Abstract

*Catharanthus roseus* is a medicinal plant that widely known as an important pharmaceutical source through secondary metabolites, especially Indole Alkaloid Terpenoid (TIA) with vincristine and vinblastine in the treatment of cancer. Primary and specific metabolisms are closely related. Primary metabolism plays a role in providing precursors to secondary metabolism. Environmental stress can reduce the productivity of primary metabolites and increase secondary metabolite products. The effect of increasing secondary metabolic activity will increase the quality and efficacy of plant simplicia drugs. Based on this, environmental stress plays a role in increasing the induction and concentration of certain secondary metabolites in plants. This review aims to determine the effect of abiotic stress on secondary metabolite concentrations in *C. roseus*. The results showed that primary and secondary metabolites in plants are interrelated because primary metabolites in plants can serve as precursors and signals for synthesis of secondary metabolite. Molecular understanding of these interconnections is important as a novel metabolic engineering approach to enhance the biosynthesis of the important secondary metabolites of *C. roseus*. The sucrose-breaking enzyme, CWIN plays an important role in modulating various secondary metabolic pathways in the planta. There are three CWIN isoforms in *C. roseus* that show specific differential expression in the tissue pattern. CrCWIN2 was found to have the catalytic site required for an invertase function. Gene expression analysis is needed to outline possible correlations between expression patterns of CWIN, TIA isoforms, phenylpropanoid biosynthesis genes, sucrose metabolism genes and growth/antioxidant genes under abiotic stress conditions which are known to affect vindoline and catarantin production in *C. roseus*. Sucrose supplementation increases the expression of CWIN and secondary metabolic genes, levels of vindolin, catarantin, geraniol, fisetin, coumarin and cinnamic acid. The interconnection between primary and secondary metabolism is confirmed by overexpression of CrCWIN2.

**Keywords:** *Catharanthus roseus*, abiotic stress, gene expression, secondary metabolite

## PENDAHULUAN

*Catharanthus roseus* merupakan salah satu jenis tanaman obat yang dikenal luas, digunakan sebagai sumber farmaseutikal penting khususnya melalui metabolit sekunder, terutama *Terpenoid Indole Alkaloid* (TIA) dengan vinkristin dan vinblastin yang digunakan dalam pengobatan kanker (Moudi *et al.*, 2013). Dimerisasi vindolin dan katarantin menghasilkan vinblastin di planta, yang selanjutnya dikonversi menjadi vinkristin. Prekursor monomerik, vindolin dan katarantin dipisahkan secara

spasial pada tanaman, vindolin terlokalisasi dalam latisifer dan idioblast sedangkan katarantin disekresikan ke permukaan daun dan terakumulasi dalam eksudat lilin. Oleh karena itu produksi vinkristin dan vinblastin terbatas pada jumlah jejak planta (Ahmad *et al.*, 2018). Produksi vinkristin dan vinblastin dilakukan oleh pasangan kimia dari banyak prekursor monomer-vindolin dan katarantin. Peningkatan prekursor tersebut pada planta dapat menjadi pendekatan untuk mendapatkan metabolit sekunder sebagai bahan obat anti kanker

dengan konsentrasi lebih tinggi. Hasil yang rendah dari anti kanker TIA menyebabkan berbagai studi biokimia dan molekular dilakukan untuk mempelajari metabolisme sekunder dan usaha meningkatkan konsentrasi TIA dalam *C. roseus* (Alam *et al.*, 2017).

Sebagian besar penelitian menunjukkan bahwa metabolisme primer dan khusus saling terkait erat. Metabolisme primer berperan memberikan prekursor pada metabolisme sekunder. Sukrosa dan produk heksosa (glukosa dan fruktosa) memegang peran penting dalam metabolisme primer dan sekunder. Sukrosa dan produk heksosa bertindak sebagai molekul pemberi sinyal dan menyediakan kerangka karbon untuk produksi metabolit sekunder (Caretto *et al.*, 2015). *Cross-talk* antara karbon dan metabolit sekunder telah dilaporkan dalam trikoma kelenjar, dimana energi dan pengurangan daya dari fotosintesis dialihkan untuk mencapai produktivitas metabolit sekunder yang tinggi (Balcke *et al.*, 2017). *CWIN (Cell Wall Invertase)* merupakan enzim kunci dalam metabolisme sukrosa yang mengkatalis pemecahan irreversibel sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Selain itu, juga berperan dalam pleiotropis seperti respon cekaman pensinyalan gula, perkembangan bunga, buah dan perkecambahan (Liu, Offler and Ruan,

2016). *CWIN* memodulasi kadar metabolit sekunder pada planta. Peran penting *CWIN* dalam metabolisme primer dan sekunder belum banyak diteliti dalam tanaman obat apapun, termasuk *C. roseus*. Pemahaman interaksi antara metabolisme primer dan sekunder pada tingkat molekular yang melibatkan enzim dan gen penting dapat digunakan untuk mengungkap cara baru yang memungkinkan memanipulasi biosintesis metabolit sekunder pada planta.

Produk utama penyimpanan pada tanaman ialah sukrosa dan pati. Cekaman lingkungan dapat berdampak negatif bagi pertumbuhan tanaman. Faktor-faktor seperti iklim, edafil, zat polutan buatan, dan kompetisi dengan makhluk hidup lain, dapat mempengaruhi pembentukan senyawa metabolit sekunder. Cekaman lingkungan dapat digunakan sebagai strategi untuk mengoptimalkan produksi senyawa tertentu pada tanaman. Faktor lingkungan seperti defisit air, kekeringan, temperatur, mineral, logam berat, dan patogen dapat meningkatkan metabolit sekunder tertentu pada tanaman obat. Respon tanaman terhadap cekaman menurunkan produktivitas metabolit primer dan meningkatkan produk metabolit sekunder. Pengaruh dalam meningkatkan aktivitas metabolisme sekunder, akan meningkatkan mutu dan khasiat obat

simplisia tanaman (Trisilawati & Pitono, 2012). Berdasarkan hal tersebut, cekaman lingkungan berperan meningkatkan induksi dan konsentrasi metabolit sekunder tertentu pada tanaman sehingga diperlukan *review* ini untuk mengetahui pengaruh cekaman abiotik terhadap konsentrasi metabolit sekunder pada tanaman *C. roseus*. Tujuan dari *review* ini adalah mengetahui pengaruh cekaman abiotik yang meliputi cekaman dingin, kekeringan, salinitas, suplementasi sukrosa, UV, dan pelukaan terhadap ekspresi gen dan konsentrasi metabolit sekunder pada tanaman *C. roseus*.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilakukan dengan metode studi pustaka. Seluruh pustaka yang berkaitan dengan cekaman abiotik, ekspresi gen dan metabolit sekunder pada *C. roseus* dikumpulkan lalu dikaji. Hal demikian bertujuan agar didapatkan informasi dengan lengkap dan sudah terbukti secara ilmiah. Data yang didapatkan dianalisis dan dijelaskan secara deskriptif kualitatif untuk mengetahui pengaruh cekaman abiotik terhadap ekspresi gen dan konsentrasi metabolit sekunder pada *C. roseus*.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Metabolisme TIA**

Metabolisme TIA khususnya biosintesis vindolin dan katarantin

dipengaruhi oleh tekanan abiotik. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memahami respon transkripsi gen biosintesis TIA di bawah kondisi yang mempengaruhi metabolisme alkaloid. Penelitian RNA-Seq telah dilakukan untuk memahami modulasi transkriptomik dalam berbagai kondisi (S. Kumar *et al.*, 2014).

Gongora-Castillo *et al.* (2012) berhasil meneliti profil urutan dan ekspresi transkriptom *C. roseus*. Ditemukan bahwa gen biosintesis vinblastin diregulasi naik dalam merespon perlakuan methyl jasmonat. Sun *et al.* (2016) meneliti respon transkripsional terhadap ekspresi berlebih *Anthranilate Synthase* (AS) dalam rambut akar *C. roseus* transgenik. Ditemukan bahwa asam amino aromatik, asam lemak, glutathione dan gen metabolisme alfa-linolenat secara signifikan diregulasi naik sedangkan glikolisis/ glukoneogenesis, gula amino dan gula nukleotida, pati-sukrosa, sistein-metionin dan gen metabolisme piruvat diturunkan regulasinya. Hal tersebut menunjukkan kemungkinan modulasi pada jalur metabolisme primer dan sekunder karena konsentrasi AS berlebih. Liu *et al.* (2014) mempelajari respon transkriptomi *C. roseus* terhadap *the peanut witches' broom* (PnWB) melalui infeksi fitoplasma dengan pengurutan transkriptomik. Ditemukan banyak stimulus abiotik dan biotik terkait gen serta fotosintesis, perkembangan

kloroplas dan energi gen metabolisme diregulasi meningkat. Ini menunjukkan perubahan dinamis dalam metabolisme primer dan ekspresi gen terkait cekaman.

Moerkercke *et al.* (2013) mengkonstruksi CathaCyc, database jalur metabolik *C. roseus* berdasarkan data RNA-Seq. Korelasi antara pola ekspresi gen CWIN dan biosintesis TIA belum banyak diteliti. Daun *C. rosesus* yang diberi perlakuan cekaman temperatur dingin, radiasi UV, pelukaan, dan sukrosa eksogen dapat dipelajari pola ekspresi gen utama yang terlibat dalam biosintesis TIA dan efek simultan pada jalur metabolisme lainnya, karbohidrat, metabolisme fenilpropanoid dan antioksidan/gen terkait pertumbuhan (Nishanth *et al.*, 2018).

### **Cekaman Dingin**

Cekaman dingin mengakibatkan peningkatan regulasi gen yang memetabolisme sukrosa (CrCWIN1, CrCWIN3, dan SUSY), sedangkan regulasi SPS diturunkan. Gula seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, rafinosa, dan stasiosa yang dikenal sebagai *cryoprotectants*, terutama terlibat dalam melindungi integritas membran sel dengan mengurangi dehidrasi yang diinduksi pembekuan (Redondo-Gomez, 2013). Respon dingin menyebabkan peningkatan regulasi isoform SUSY dan CWIN. Hal tersebut juga terjadi pada SPS yang mengalami peningkatan regulasi di bawah cekaman

dingin. Selain itu, berdasarkan penelitian Nishanth *et al.* (2018) menunjukkan penurunan ekspresi gen disebabkan perbedaan spesifik pada spesies tanaman. Sebagai respon terhadap cekaman temperatur rendah, tanaman memodulasi ekspresi gen yang terlibat dalam metabolisme gula terlarut, pengangkutan dan pemecahan pati sehingga akan mengakumulasi gula termasuk sukrosa dan heksosa yang bertindak sebagai *cryoprotectants* (Redondo-Gomez, 2013). Dengan demikian, *cascade* dari gen metabolisme gula, komponen transporter dan pensinyalan (seperti kinase) terlibat dalam respon cekaman dingin di planta.

Perbedaan pola ekspresi dari gen–gen tersebut bervariasi dalam spesies secara spesifik. Adapun gen metabolisme TIA, SLS, TDC, STR dan PRX1 diinduksi secara signifikan, menunjukkan kemungkinan peran TIA dalam respon cekaman dingin. Peroksidase memberikan toleransi terhadap cekaman dingin. Pola ekspresi diferensial diamati pada gen biosintesis fenilpropanoid, khusus flavonoid memberikan toleransi pembekuan dengan mencegah agregasi protein. Penelitian serupa pada *A. thaliana* memiliki pola yang sedikit berbeda, dimana PAL ditemukan diregulasi bersama sebagian besar gen metabolisme karbohidrat. Gen antioksidan CAT dan SOD diturunkan saat SAG telah diregulasi,

menunjukkan PRX1 kemungkinan memiliki peran sebagai antioksidan yang lebih dominan dibandingkan dengan CAT dan SOD (Nishanth *et al.*, 2018).

### **Cekaman kekeringan**

Cekaman kekeringan ditemukan memiliki efek buruk dengan penurunan regulasi metabolisme. Gen metabolisme karbohidrat sebagian besar tidak diatur. Kekeringan menghambat pertumbuhan tanaman, mengganggu hubungan mineral–nutrisi, dan merusak metabolisme karena perubahan metabolisme karbon fotosintetik. Sementara dua gen biosintesis TIA, yaitu DAT dan TDC ditekan, peningkatan regulasi cukup tinggi terjadi pada STR dan PRX1 yang kemungkinan berkaitan dengan peningkatan tekanan turgor. Gen biosintesis fenilpropanoid menunjukkan pola ekspresi diferensial. Peningkatan kadar fenolik dan gen biosintesisnya merupakan karakteristik dari jaringan yang mengalami kekeringan (Gall *et al.*, 2015).

Pengerasan dinding sel selama kekeringan dikaitkan dengan peningkatan biosintesis lignin yang merupakan turunan dari jalur fenilpropanoid. Gen antioksidan menunjukkan tren yang berbeda, sementara SAG meningkat pada musim kering. Kekeringan menyebabkan modulasi rasio C/N, penurunan pertumbuhan dan penuaan daun pada Sorghum (Chen *et al.*, 2015).

### **Cekaman Salinitas**

Cekaman salinitas memiliki berbagai efek pada ekspresi gen metabolisme sukrosa, dimana CrCWIN1 dan CrCWIN2 diinduksi tinggi, sementara CrCWIN3 dan SPS ditekan. Osmoregulasi adalah aspek kunci dalam toleransi salinitas pada tanaman dan beberapa osmolit utama seperti prolin, gula, dan poliol yang memiliki peran penting dalam mengurangi cekaman salinitas sehingga menyebabkan peningkatan kadar gen metabolisme gula. Gen metabolisme TIA, TDC, STR dan PRX1 diregulasi naik, sementara DAT diregulasi turun.

Alkaloid diketahui memberikan toleransi salinitas terhadap tanaman sehingga semakin menguatkan perannya dalam mengurangi cekaman salinitas (Nahar *et al.*, 2016). Terjadi peningkatan kadar CWIN, STR, TDC dan PRX1 karena salinitas memberikan prospek *crossstalk* molekul antara karbohidrat dan jalur biosintesis TIA. Gen fenilpropanoid PAL diinduksi, sementara CHS ditekan. Perlakuan salinitas dapat meningkatkan biosintesis gen fenilpropanoid pada safflower, spesies *Salvia* dan *Caragana korshinskii* (Valifard *et al.*, 2015).

### **Suplementasi Sukrosa**

Perlakuan suplementasi sukrosa eksogen memiliki efek signifikan pada gula terlarut, fenilpropanoid dan gen metabolisme TIA, dimana ekspresi

sebagian besar gen diregulasi naik. Perlakuan sukrosa menghasilkan peningkatan regulasi yang signifikan dari CrCWIN2, tetapi tidak pada CrCWIN1 dan CrCWIN3 karena kurangnya kotak pengikat sukrosa dalam dua isoform ini. SUSY juga ditemukan diregulasi naik. Gen biosintesis TIA, G10H, SLS, TDC, STR, DXS dan PRX1 ditemukan diinduksi secara signifikan.

Diantara gen fenilpropanoid, PAL dan C4H diregulasi meningkat. Perlakuan sukrosa menginduksi CWIN dalam kentang, bersama dengan gen fenilpropanoid utama yang disebabkan oleh hubungan faktor transkripsi (WD40, AN1 dan bHLH) (Payyavula *et al.*, 2013). Perlakuan sukrosa diketahui meningkatkan level terapeutik TIA dan fenilpropanoid. Selanjutnya, CAT dan SAG ditekan, menunjukkan kemungkinan pengurangan cekaman oksidatif dan penuaan (Nishanth *et al.*, 2018).

#### **Cekaman UV**

Perlakuan cekaman UV menurunkan regulasi CrCWIN1, sedangkan gen metabolisme TIA menunjukkan tren yang bervariasi. G10H, DAT dan SLS diregulasi turun, sedangkan TDC, STR, dan PRX1 diregulasi meningkat. Peningkatan regulasi juga terjadi dalam ekspresi STR dan TDC. Peningkatan alkaloid yang dimediasi UV dikaitkan dengan sifat penyerap UV pada tanaman yang berfungsi mencegah

kerusakan pada fotosistem disebabkan oleh radiasi UV-B. Selanjutnya, CHS diregulasi turun sama seperti yang dilaporkan terjadi pada *A. thaliana* dimana beberapa gen metabolisme fenilpropanoid diregulasi turun pada tanaman yang terpapar radiasi UV (Hectors *et al.*, 2007). Sensitivitas tanaman terhadap radiasi UV bervariasi pada spesies tanaman yang berbeda. Gen penanda antioksidan dan penuaan SOD dan SAG diregulasi naik, kemungkinan menunjukkan peningkatan permintaan untuk mekanisme pembersihan ROS karena stress UV (Nishanth *et al.*, 2018).

#### **Cekaman Pelukaan**

Cekaman pelukaan mengakibatkan sedikit regulasi naik pada CrCWIN2, sambil menekan SPS yang mengindikasikan kemungkinan peningkatan sukrosa dan pengurangan dalam sintesis. Gula diketahui mengatur ekspresi gen yang diinduksi luka, seperti yang berhubungan dengan patogenesis. Dengan demikian menguatkan pengaruh luka pada gen metabolisme gula terlarut. Gen biosintesis TIA (SLS, STR, DXS, dan PRX1) sebagian besar diregulasi naik. Pada *C. roseus*, pelukaan diketahui untuk mengaktifkan MAP-K yang memediasi pensinyalan *cascade* dan selanjutnya, gen dan regulator jalur biosintesis TIA. Semua gen biosintesis fenilpropanoid ditekan, kecuali C4H. Alokasi sumber daya kemungkinan diarahkan pada biosintesis

lignin sebagai respon terhadap luka. Metabolisme TIA pada *C. roseus* berada di bawah regulasi ketat pada tingkat transkripsi oleh beberapa faktor transkripsi seperti ORCA, CrBPF1, CrWRKY1, CrMYC1, CrMYC2, BIS1, GBF2 dan ZCTs (Y.-H. Liu *et al.*, 2016).

### **Pengaruh Cekaman terhadap Metabolisme TIA**

CrWRKY1 mengikat ke promotor TDC dan menghasilkan over ekspresi pada regulasi *upregulation* beberapa gen, terutama mengatur jalur serpentin. CrBPF1 (faktor transkripsi MYB), diketahui menekan level TIA. CrGBF1, CrGBF2 dan *Zinc Finger Transcription Factor-ZCT-1,2,3* dikenal sebagai repressor transkripsi dari biosintesis TIA. ORCA3, faktor AP2/ERF adalah regulator utama metabolisme primer dan sekunder dalam *C. roseus* dan memainkan peran penting dalam biosintesis TIA. ORCA3 mentransaksikan ekspresi *strictosidine synthase* (STR), gen biosintesis utama TIA dengan mengikat elemen 5' *upstream-cis*, jasmonat dan elemen respon elisitor (JERE).

Lebih lanjut, meningkatkan ekspresi beberapa gen struktural seperti TDC, D4H, SLS, CPR, DXS dan AS (Fits & Memelink, 2001). ORCA3 ditemukan diregulasi turun pada perlakuan cekaman sukrosa, UV, salinitas dan kekeringan terhadap daun *C. roseus*. Pada perlakuan

cekaman dingin dan pelukaan, tidak ada perubahan signifikan. Namun, gen biosintesis TIA ditemukan diregulasi naik di bawah kondisi ini yang menunjukkan kemungkinan pengaturan tambahan komponen selain ORCA3 yang beroperasi dalam kondisi tersebut. Singkatnya, perlakuan sukrosa ditemukan secara bersamaan meningkatkan regulasi CrCWIN2 dan gen metabolisme khusus yang utama, bersamaan dengan penurunan regulasi sistem antioksidan (CAT) dan penanda penuaan (SAG). Hal tersebut mengindikasikan pengurangan stress oksidatif dan penuaan. Kemungkinan terdapat pola co-regulasi dalam jaringan gen metabolisme primer dan sekunder sebagai respon penggunaan sukrosa pada daun *C. roseus* (Nishanth *et al.*, 2018).

Metabolisme tanaman mengalami perubahan signifikan sebagai respon terhadap cekaman abiotik. Efek perlakuan cekaman terhadap metabolit sekunder *C. roseus* diketahui dengan penilaian tingkat prekursor monomerik antikanker TIA-vindolin dan katarantin, bersama dengan bis-indole alkaloid-vinblastin, asam sinamat (produk dari reaksi katalisasi PAL), kumarin, fisetin (fenilpropanoid), dan geraniol (alkohol monoterpenoid dengan peran terbatas dalam biosintesis TIA) (K. Kumar *et al.*, 2015). Daun *C. roseus* ditemukan mengandung jumlah TIA terapeutik tertinggi. Oleh karena itu,

jaringan daun biasa digunakan untuk menganalisis perubahan jumlah metabolit dalam kondisi perlakuan tertentu. Perlakuan dingin menyebabkan penurunan vindolin secara signifikan, sementara tidak terjadi perubahan pada katarantin.

Akumulasi katarantin dan vindolin terbukti diturunkan sebagai respon terhadap cekaman dingin (Dutta *et al.*, 2013). Sebagai prekursor TIA, geraniol ditemukan meningkat pada daun yang diberi perlakuan cekaman dingin. Pada penelitian terdahulu menunjukkan bahwa suhu rendah menurunkan kadar geraniol pada geranium, meskipun mekanisme yang tepat belum diketahui secara jelas. Fenilpropanoid membentuk pertahanan lini pertama melawan cekaman abiotik karena potensi antioksidan bawaan. Akumulasi asam sinamat ditemukan menurun dan diketahui lebih lanjut berkorelasi dengan profil ekspresi gen fenilpropanoid, dimana PAL ditemukan penurunan regulasinya. Namun terdapat hasil penelitian yang kontras, mengindikasikan regulasi fenilpropanoid spesifik di bawah temperatur rendah. Tidak ada perubahan yang diamati pada kadar kumarin. Pada daun *Arabidopsis*, tingkat skolopoletin, turunan kumarin ditemukan meningkat sebagai respon terhadap cekaman dingin. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan dalam reorganisasi metabolisme individu tanaman sebagai respon terhadap

cekaman. Cekaman dingin mengakibatkan peningkatan kadar fisetin yang tinggi. Flavonoid diketahui menumpuk sebagai respon terhadap tekanan abiotik, sehingga memberikan toleransi terhadap suhu rendah (Nishanth *et al.*, 2018).

Cekaman kekeringan menyebabkan penurunan semua kadar metabolit, kecuali fisetin. Kekeringan terbukti menyebabkan variasi dinamis dalam level vindolin dan katarantin, dimana vindolin ditampilkan mengalami tren turun-naik sementara katarantin menunjukkan penurunan bertahap dalam tingkat jaringan *C. roseus* berkaitan dengan PEG yang diinduksi cekaman kekeringan (Y. Liu *et al.*, 2017). Kandungan geraniol ditemukan berkurang setelah perlakuan kekeringan. Tingkat geraniol pada tanaman terbukti tergantung pada intensitas cekaman kekeringan, durasi, dan spesies. Kadar asam sinamat ditemukan menurun, yang berkorelasi dengan ekspresi gen dimana PAL secara signifikan diregulasi menurun. Namun, penelitian sebelumnya melaporkan hasil berbeda. Akumulasi fisetin menunjukkan peningkatan signifikan pada jaringan yang diberi cekaman kekeringan dan kemungkinan peningkatan regulasi biosintesis flavonoid yang dimediasi cekaman kekeringan. Efek berbeda dari kekeringan pada biosintesis flavonoid dilaporkan pada gandum. Flavonoid bertindak sebagai anti-ROS sehingga



membentuk lini pertama pertahanan terhadap stress oksidatif. Konsentrasi kumarin ditemukan berkurang. Hasil serupa diamati pada kasus daun *Vitis vinifera*, dimana sebagian besar senyawa fenolik berlimpah mengalami penurunan yang signifikan, karena spesifitas spesies mempengaruhi perubahan metabolit yang disebabkan cekaman kekeringan (Krol, Amarowicz & Weidner, 2014).

Cekaman salinitas menghasilkan peningkatan kadar vindolin yang signifikan, sementara katarantin berkurang drastis. Laporan sebelumnya menunjukkan efek salinitas bertentangan pada tingkat biosintesis TIA. Konsentrasi geraniol meningkat dalam jaringan yang diberi perlakuan garam sehingga menunjukkan peningkatan regulasi biosintesis monoterpenoid. Pengamatan serupa dilakukan pada *Coriandrum sativum* berkaitan dengan peningkatan kepadatan kelenjar minyak. Konsentrasi asam sinamat menunjukkan penurunan yang signifikan pada jaringan yang diberi perlakuan garam. Namun, efek cekaman berbeda dari cekaman garam pada isoform PAL diamati terjadi pada berbagai spesies tanaman (Yan *et al.*, 2016). Karena itu dapat disimpulkan efek salinitas terhadap asam sinamat tergantung pada spesies. Level fisetin menunjukkan penurunan drastis di bawah kondisi salinitas. Penelitian lain menunjukkan bahwa pola akumulasi

flavonoid di bawah cekaman salinitas adalah spesifik berdasar spesies, diatur melalui keberadaan flavonoid yang dominan (Nishanth *et al.*, 2018).

Cekaman UV menghasilkan *downregulation* TIA dan fenilpropanoid. Sebaliknya, penelitian lain melaporkan induksi TIA berbasis UV melalui suplementasi nitrogen pada daun *C. roseus*. Peningkatan level vindolin dan katarantin juga dilaporkan pada suspensi kultur sel *C. roseus* dengan perlakuan radiasi UV. Kadar geraniol dan kumarin tidak terpengaruh oleh cekaman UV. Cekaman UV terbukti menghasilkan efek diferensial pada geraniol tanaman yang berbeda, terutama disebabkan oleh pensinyalan yang dimediasi ROS. Kadar fenilpropanoid menunjukkan penurunan (asam sinamat dan fisetin) atau tidak ada perubahan (kumarin). Hal tersebut berkaitan dengan perbedaan spesifik tanaman dalam mekanisme respon terhadap paparan UV (Nishanth *et al.*, 2018).

Cekaman pelukaan akan menurunkan produksi katarantin, vindolin, asam sinamat dan kumarin, sedangkan geraniol dan fisetin tidak terpengaruh secara signifikan. Pembentukan alkaloid berkurang pada bagian-bagian tanaman yang diberi cekaman pelukaan pada *C. roseus* dikaitkan dengan regulasi perkembangan spesifik. Vázquez-Flota *et al.* (2004) melaporkan bahwa peningkatan

kadar vindolin dan ajmalisin dari bibit *C. roseus* yang diberi pelukaan, sementara level katarantin tetap tidak terpengaruh. Ester asam sinamat memiliki efek melindungi luka dan metabolit turunan fenilpropanoid seperti asetosidringon berperan dalam respon cekaman pelukaan. Penurunan kadar asam sinamat disebabkan oleh *chanelling* senyawa tersebut ke arah sintesis metabolit pelindung luka lainnya (Nishanth *et al.*, 2018).

Suplementasi sukrosa eksogen menghasilkan peningkatan regulasi biosintesis dari semua metabolit. Sukrosa dapat bertindak sebagai molekul pemberi sinyal yang menginduksi biosintesis berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid dan antosianin. Kadar vindolin dan katarantin meningkat secara signifikan pada perlakuan sukrosa. Alkaloid dimer dan vinblastin tidak diregulasi pada berbagai perlakuan cekaman. Hal tersebut berkaitan dengan pemisahan spasial dari prekursornya, vindolin dan katarantin di jaringan daun (Nishanth *et al.*, 2018).

Upaya meningkatkan TIA di *C. roseus* menunjukkan peningkatan regulasi prekursor monomer, bukan TIA dimer. Ekspresi ORCA3 dan G10H memiliki efek lebih nyata pada akumulasi prekursor (striktosidin, vindolin, katarantin, dan ajmalisin) dibandingkan dengan TIA dimer (anhidrovinblastin dan vinblastin). Ekspresi berlebih transien CrMPK3 juga

menghasilkan peningkatan regulasi vindolin, katarantin, dan serpentin yang lebih tinggi dibandingkan dengan vinkristin (TIA dimer) (Nishanth *et al.*, 2018).

Kadar vindolin dan katarantin di planta secara inheren lebih tinggi daripada dimer, sehingga memungkinkan para peneliti untuk mengkomersilkan *in vitro coupling* untuk menghasilkan TIA dimerik (Singh *et al.*, 2000). Strategi untuk meningkatkan kadar vindolin dan katarantin melalui metabolisme sukrosa di *C. roseus* diikuti oleh isolasi dan *chemical coupling* untuk mendapatkan TIA dimer yang akan memacu peningkatan produksi antikanker TIA. Suplementasi sukrosa dapat meningkatkan produksi metabolit sekunder pada daun *C. rosesus* tanpa menyebabkan kerusakan pada proses pertumbuhannya. Aspek mekanis efek tersebut dapat membuka jalur baru dalam rekayasa metabolisme tanaman obat (Nishanth *et al.*, 2018).

## KESIMPULAN

Kesimpulan dari *review* ini adalah metabolisme primer dan sekunder pada tanaman saling berkaitan karena metabolit primer pada tanaman dapat berfungsi sebagai prekursor dan sinyal untuk sintesis metabolit sekunder. Pemahaman molekular yang jelas tentang interkoneksi tersebut penting sebagai pendekatan rekaya

metabolik baru untuk meningkatkan biosintesis metabolit sekunder terapeutik tanaman yang penting dari *C. roseus*. Enzim pemecah sukrosa, CWIN memainkan peran penting dalam memodulasi beragam jalur metabolisme sekunder di planta. Terdapat tiga isoform CWIN pada *C. roseus* yang menunjukkan ekspresi diferensial spesifik pada pola jaringan. CrCWIN2 ditemukan memiliki situs katalitik yang diperlukan sebagai fungsi invertase. Analisis ekspresi gen diperlukan untuk menguraikan kemungkinan korelasi antara pola ekspresi isoform CWIN, TIA, gen biosintesis fenilpropanoid, gen metabolisme sukrosa dan gen pertumbuhan/antioksidan dalam kondisi cekaman abiotik yang diketahui mempengaruhi produksi vindolin dan katarantin dalam *C. roseus*. Suplementasi sukrosa meningkatkan ekspresi CWIN dan gen metabolisme sekunder, kadar vindolin, katarantin, geraniol, fisetin, kumarin dan asam sinamat. Interkoneksi antara metabolisme primer dan sekunder dikonfirmasi melalui overexpression dari CrCWIN2.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad B, Banerjee A, Tiwari H, Jana S, Bose S, & Chakrabarti S. 2018. Structural and functional characterization of the vindoline biosynthesis pathway enzymes of *Catharanthus roseus*. *Journal of Molecular Modeling*, 24(53), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00894-018-3590-2>
- Alam MM, Naeem M, Khan MMA, & Uddin M. 2017. Vincristine and Vinblastine Anticancer Catharanthus Alkaloids: Pharmacological Applications and Strategies for Yield Improvement. In M. Naeem, T. Aftab, & M. Khan (Eds.), *Catharanthus roseus* (pp. 277–307). Springer.
- Balcke GU, Bennewitz S, Bergau N, Athmer B, Henning A, Majovsky P, Jiménez-gómez JM, Hoehenwarter W, & Tissier A. 2017. Multi-omics of tomato glandular trichomes reveals distinct features of central carbon metabolism supporting high productivity of specialized metabolites. *The Plant Cell*, 29, 960–983. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00060>
- Caretto S, Linsalata V, Colella G, Mita G, & Lattanzio V. 2015. Carbon fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 26378–26394. <https://doi.org/10.3390/ijms161125967>
- Chen D, Wang S, Xiong B, Cao B, & Deng X. 2015. Carbon/nitrogen imbalance associated with drought-induced leaf senescence in Sorghum bicolor. *PLoS ONE*, 10(8), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137026>
- Dutta A, Sen J, & Deswal R. 2013. New evidences about strictosidine synthase (Str) regulation by salinity, cold stress and nitric oxide in *Catharanthus roseus*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 22(1), 124–131. <https://doi.org/10.1007/s13562-012-0118-1>
- Fits L van der & Memelink J. 2001. The jasmonate-inducible AP2/ERF-domain transcription factor ORCA3 activates gene expression via interaction with a jasmonate-responsive promoter element. *The*

- Plant Journal*, 25(1), 43–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2001.00932.x>
- Gall H Le, Philippe F, Domon J, Gillet F, Pelloux J, & Rayon C. 2015. Cell wall metabolism in response to abiotic stress. *Plants*, 4, 112–166. <https://doi.org/10.3390/plants4010112>
- Gongora-Castillo E, Childs KL, Fedewa G, Hamilton JP, Liscombe DK, Magallanes-lundback M, Mandadi KK, Nims E, Runguphan W, Vaillancourt B, Varbanova-herde M, DellaPenna, D., Mcknight, T. D., O'Connor, S., & Buell, C. R. (2012). Development of transcriptomic resources for interrogating the biosynthesis of monoterpene indole alkaloids in medicinal plant species. *PLoS ONE*, 7(12), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052506>
- Hectors K, Prinsen E, De Coen W, Jansen MAK, & Guisez Y. 2007. *Arabidopsis thaliana* plants acclimated to low dose rates of ultraviolet B radiation show specific changes in morphology and gene expression in the absence of stress symptoms. *New Phytologist*, 175, 255–270. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02092.x>
- Krol A, Amarowicz R, & Weidner S. 2014. Changes in the composition of phenolic compounds and antioxidant properties of grapevine roots and leaves (*Vitis vinifera* L.) under continuous of long-term drought stress. *Acta Physiol Plant*, 36, 1491–1499. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1526-8>
- Kumar K, Kumar SR, Dwivedi V, Rai A, Shukla AK, Shanker K, & Nagegowda DA. 2015. Precursor feeding studies and molecular characterization of geraniol synthase establish the limiting role of geraniol in monoterpene indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus* leaves. *Plant Science*, 239, 56–66. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.07.007>
- Kumar S, Shah N, Garg V, & Bhatia S. 2014. Large scale in-silico identification and characterization of simple sequence repeats (SSRs) from de novo assembled transcriptome of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Plant Cell Rep*, 33, 905–918. <https://doi.org/10.1007/s00299-014-1569-8>
- Liu L-YD, Tseng H-I, Lin C-P, Lin Y-Y, Huang Y-H, Huang C-K, Chang T-H, & Lin S-S. 2014. High-throughput transcriptome analysis of the leafy flower transition of *Catharanthus roseus* induced by peanut witches'-broom phytoplasma infection. *Plant Cell Physiol*, 55(5), 942–957. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcu029>
- Liu Y-H, Offler CE, & Ruan Y-L. 2016. Cell wall invertase promotes fruit set under heat stress by suppressing ROS-independent. *Plant Physiology*, 172, 163–180. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00959>
- Liu Y, Meng Q, Duan X, Zhang Z, & Li D. 2017. Effects of PEG-induced drought stress on regulation of indole alkaloid biosynthesis in *Catharanthus roseus*. *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 87–91. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1293852>
- Moerkercke A Van, Fabris M, Pollier J, Baart GJE, Rombauts S, Hasnain G, Rischer H, Memelink J, Oksman-Caldentey K-M, & Goossens A. 2013. CathaCyc, a metabolic pathway database built from *Catharanthus roseus* RNA-Seq data. *Plant*, 54(5), 673–685. <https://doi.org/10.1093/pcp/pct039>
- Moudi M, Go R, Yien CS, & Nazre M. 2013. Vinca alkaloids. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(11), 1231–1235.
- Nahar K, Hasanuzzaman M, & Fujita M. 2016. Roles of osmolytes in plant adaptation to drought and salinity. In

- N. Iqbal, N. A. Khan, & R. Nazar (Eds.), *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies* (pp. 37–68). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2616-1>
- Nishanth MJ, Sheshadri SA, Rathore SS, Srinidhi S, & Simon B. 2018. Expression analysis of cell wall invertase under abiotic stress conditions influencing specialized metabolism in *Catharanthus roseus*. *Nature*, 8(15059), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33415-w>
- Payyavula RS, Singh RK, & Navarre DA. 2013. Transcription factors, sucrose, and sucrose metabolic genes interact to regulate potato phenylpropanoid metabolism. *Journal of Experimental Botany*, 64(16), 5115–5131. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert303>
- Redondo-Gomez, S. 2013. Abiotic and biotic stress tolerance in plants. In G. R. Rout & A. B. Das (Eds.), *Molecular Stress Physiology of Plants* (pp. 1–20). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-0807-5>
- Singh DV, Maithy A, Verma RK, Gupta MM, & Kumar, S. 2000. Simultaneous determination of *Catharanthus* alkaloids using reversed phase high performance liquid chromatography. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, 23(4), 601–607. <https://doi.org/10.1081/JLC-100101476>
- Sun J, Manmathan H, Sun C, & Peebles CAM. 2016. Examining the transcriptional response of overexpressing anthranilate synthase in the hairy roots of an important medicinal plant *Catharanthus roseus* by RNA-seq. *BMC Plant Biology*, 16(108), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0794-4>
- Trisilawati O, & Pitono J. 2012. Pengaruh cekaman defisit air terhadap pembentukan bahan aktif pada purwoceng. *Bul. Littro.*, 23(1), 34–47. <https://doi.org/10.21082/bullittro.v23n1.2012.%25p>
- Valifard M, Mohsenzadeh S, Niazi A, & Moghadam A. 2015. Phenylalanine ammonia lyase isolation and functional analysis of phenylpropanoid pathway under salinity stress in *Salvia* species. *Australian Journal of Crop Science*, 9(7), 656–665.
- Vázquez-Flota F, Carrillo-Pech M, Minero-García Y, & Miranda-Ham MDL. 2004. Alkaloid metabolism in wounded *Catharanthus roseus* seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 623–628. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.06.010>
- Yan K, Cui M, Zhao S, Chen X, & Tang X. 2016. Salinity stress is beneficial to the accumulation of chlorogenic acids in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.). *Frontiers in Plant Science*, 7, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01563>