



TUGAS AKHIR - SB184830

**PENGARUH CEKAMAN KADMIUM TERHADAP
PARAMETER PERTUMBUHAN SERTA KAJIAN
LITERATUR MENGENAI KADAR MDA DAN
EKSPRESI GENETIK *Setaria italica***

**IRA PUSPANINGTYAS
0131164000016**

**Dosen Pembimbing:
Dr. Nurul Jadid, M.Sc.**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2020**



TUGAS AKHIR - SB184830

**PENGARUH CEKAMAN KADMIUM TERHADAP
PARAMETER PERTUMBUHAN SERTA KAJIAN
LITERATUR MENGENAI KADAR MDA DAN
EKSPRESI GENETIK *Setaria italica***

**IRA PUSPANGTYAS
0131164000016**

**Dosen Pembimbing
Dr. Nurul Jadid, M.Sc.**

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN ANALITIKA DATA
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2020**



FINAL PROJECT - SB184830

**THE EFFECT OF CADMIUM STRESS IN
GROWTH PARAMETERS AND LITERATURE
REVIEW ON MDA LEVELS AND GENETICS
EXPRESSION OF *Setaria italica***

**IRA PUSPANINGTYAS
0131164000016**

**Supervisor
Dr. Nurul Jadid, M.Sc.**

**DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE AND DATA ANALYTICS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2020**

**HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR**

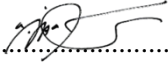
**PENGARUH CEKAMAN KADMIUM TERHADAP
PARAMETER PERTUMBUHAN SERTA
KAJIAN LITERATUR MENGENAI KADAR MDA
DAN EKSPRESI GENETIK *Setaria italica***

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains
pada
Departemen Biologi
Fakultas Sains dan Analitika Data
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:
IRA PUSPANINGTYAS
NRP. **01311640000016**

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir:

Dr. Nurul Jadid, M.Sc..........(Pembimbing 1)

Surabaya, 30 Juni 2020

Mengetahui,
Ketua Departemen Biologi



Dr. Dewi Hidayati, S.Si., M.Si.
NIP. 19691121 199802 2 001

**PENGARUH CEKAMAN KADMIUM TERHADAP
PARAMETER PERTUMBUHAN SERTA KAJIAN
LITERATUR MENGENAI KADAR MDA
DAN EKSPRESI GENETIK *Setaria italica***

Nama : Ira Puspaningtyas
NRP : 0131164000016
Departmen : Biologi
Dosen Pembimbing : Dr. Nurul Jadid, M.Sc

Abstrak.

Kadmium (Cd) yang diketahui sebagai salah satu logam berat berbahaya memiliki potensi untuk mencemari lingkungan dan menghambat pertumbuhan tanaman. Jewawut (Setaria italica) merupakan tanaman serealia alternatif pangan yang memiliki tingkat toleransi tinggi terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan dan salinitas. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh cekaman logam berat Cd terhadap respon morfo-fisiologi serta molekular tanaman Jewawut aks. Buru Merah yang dikultur secara hidroponik. Pada penelitian ini digunakan 4 taraf konsentrasi Cd (0, 0,5, 1,0 dan 1,5 μM pada media pertumbuhan ABmix) yang diberikan selama 4 minggu. Efek dari cekaman Cd yakni terganggunya pertumbuhan Jewawut aks. Buru Merah pada beberapa parameter morfo-fisiologi, terutama pada konsentrasi Cd tertinggi (1,5 μM) di usia panen 42 HST. Efek negatif dari cekaman Cd, seperti; penurunan tinggi tajuk, panjang akar, jumlah daun dan tunas, kandungan biomassa malai serta kadar klorofil total, meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi Cd yang diberikan pada media pertumbuhan Jewawut aks. Buru Merah selama 4 minggu. Berdasarkan kajian literatur, cekaman logam berat Cd menghasilkan MDA (malondialdehyde) yang lebih tinggi dan meningkatkan ekspresi genetik beberapa gen pengkode transporter logam berat seperti SiNRAMP, SiMTP, SiCAX, SiHMA, SiIRT dan SiZIP.

Kata Kunci: cekaman logam berat, ekspresi genetik, Cd, respon morfo-fisiologi, Setaria italica

**THE EFFECTS OF CADMIUM STRESS ON GROWTH
PARAMETERS AND LITERATURE REVIEW ON MDA
LEVELS AND THE GENETICS EXPRESSION OF *Setaria italica***

Student Name : Ira Puspaningtyas
NRP : 0131164000016
Department : Biology
Supervisor : Dr. Nurul Jadid, M.Sc

Abstract,

Cadmium (Cd) known as one of the dangerous heavy metals, has the potential to pollute the environment and inhibit plant growth. Foxtail millet (*Setaria italica*) is an alternative cereals food which have a high tolerance level to abiotic stresses such as drought and salinity. This study aims to examine the effects of Cd stress on the morpho-physiological and molecular responses of Foxtail millet accession Buru Merah that is cultured hydroponically. In this study used 4 levels of Cd concentrations (0, 0,5, 1,0 and 1,5 μM in ABmix growth media) given for 4 weeks. The effect of Cd stress was the growth disruption of Foxtail millet accession Buru Merah on several morpho-physiological parameters, especially at the highest Cd concentration (1,5 μM). The negative effects of Cd stress, such as; decreased of shoot length, root length, number of leaves and shoots, panicles biomass and chlorophyll content, increased along with the level of Cd concentration given to the growth media of Foxtail Millet accession Buru Merah. Based on literature, plants under Cd stress produce higher MDA (*malondialdehyde*) and have increased genetic expression in several heavy metal transporter coding genes such as *SiNRAMP*, *SiMTP*, *SiCAX*, *SiHMA*, *SiIRT* and *SiZIP*.

Keyword: Cd, genetic expression, heavy metal stress, morpho-physiological response, *Setaria italica*

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyusun Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Cekaman Kadmium terhadap Parameter Pertumbuhan serta Kajian Literatur mengenai Kadar MDA dan Ekspresi Genetik *Setaria italica*”, sebagai salah satu syarat kelulusan mata kuliah Tugas Akhir pada Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Penulis mendapatkan banyak sekali doa dan bantuan dari berbagai pihak dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini. Atas berbagai bantuan dan dukungan tersebut, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kedua Orang Tua, yang tiada henti-hentinya memberikan semangat dan kasih sayang serta doa kepada penulis.
2. Dr. Nurul Jadid, M.Sc selaku dosen pembimbing tugas akhir serta Dr. techn. Endry Nugroho Prasetyo, S.Si, M. T. dan Ibu Kristanti Indah Purwani, M. Si selaku dosen penguji sidang tugas akhir yang tidak kenal lelah memberikan ilmu, waktu dan nasihat hingga Tugas Akhir ini selesai disusun

Surabaya, 30 Juni 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xix
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR AKRONIM	xxiii
DAFTAR LAMPIRAN	xxv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan.....	4
1.5 Manfaat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tumbuhan Jewawut.....	7
2.2 Klasifikasi dan Taksonomi	9
2.3 Aksesori Buru Merah.....	9
2.4 Kadmium (Cd).....	10
2.5 Cekaman Logam Berat pada Tumbuhan	11
2.6 Respon Tumbuhan terhadap Cekaman Logam Berat	12
2.6.1 Respon Morfologi.....	12
2.6.2 Respon Fisiologi.....	13
2.6.3 Respon Biokimia dan Biomolekuler.....	13
2.7 Klorofil	15
2.8 Malondialdehyde (MDA)	16
2.9 Kultivasi Hidroponik.....	17

2.10 Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR).....	18
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Sumber Data	23
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
3.4 Alat dan Bahan	24
3.5 Metode Penelitian	24
3.5.1 Kultivasi <i>S. italica</i>	24
3.5.2 Pemberian Cekaman Logam Berat	25
3.5.3 Uji Kandungan Klorofil.....	25
3.6 Metode Pengumpulan Data Sekunder	26
3.7 Teknik Analisis Data	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Respon Morfologi.....	29
4.1.1 Pengaruh Cd terhadap Tinggi Tajuk dan Panjang Akar Tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah	31
4.1.2 Pengaruh Cd terhadap Jumlah Daun dan Tunas Tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah.....	35
4.1.3 Pengaruh Cd terhadap Biomassa Malai Tumbuhan Jewawut Aksesi Buru Merah	37
4.2 Respon Fisiologis	40
4.2.1 Pengaruh Cd terhadap Kadar Klorofil Tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah	40
4.2.2 Pengaruh Cd terhadap Kadar <i>Malondialdehyde</i> (MDA) Tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah	44
4.3 Respon Molekular	47
BAB V PENUTUP.....	57

5.1 Kesimpulan.....	57
5.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA.....	59
LAMPIRAN	81
BIODATA PENULIS.....	107

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Morfologi Tumbuhan Jewawut.....	8
Gambar 2.2 Biji Jewawut Koleksi LIPI.....	10
Gambar 2.3 Transduksi Signal Cd.....	14
Gambar 2.4 Struktur Kimia Klorofil a dan Klorofil b	18
Gambar 2.5 Skema Prinsip Teknik PCR	23
Gambar 2.6 Diagram Skematik Proses RT-PCR.....	25
Gambar 4.1 Morfologi Tumbuhan Jewawut pada Kondisi Cekaman Cd.....	31
Gambar 4.2 Grafik Panjang Akar Tumbuhan Jewawut pada Kondisi Cekaman Cd	33
Gambar 4.3 Morfologi Akar Tumbuhan Jewawut pada Kondisi Cekaman Cd.....	33
Gambar 4.4 Transporter Logam Berat Cd	34
Gambar 4.5 Grafik Jumlah Daun dan Jumlah Tunas Tumbuhan Jewawut pada Kondisi Cekaman Cd	36
Gambar 4.6 Morfologi Malai Tumbuhan Jewawut pada Kondisi Cekaman Cd.....	37
Gambar 4.7 Grafik Biomassa Malai Tumbuhan Jewawut pada Kondisi Cekaman Cd.....	38
Gambar 4.8 Morfologi Daun Tumbuhan Jewawut pada Kondisi Cekaman Cd.....	39
Gambar 4.9 Substitusi Mg^{2+} oleh Cd^{2+} pada Klorofil.....	44

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Komposisi Nutrisi AB Mix	18
Tabel 4.1 Respon Morfologi Tumbuhan Jewawut terhadap Cekaman Cd.....	30
Tabel 4.2 Kadar Klorofil Tumbuhan Jewawut terhadap Cekaman Cd.....	42
Tabel 4.3 Dinamika Produksi <i>Malondialdehyde</i> (MDA) pada Beberapa Tanaman Terpapar Cd	46
Tabel 4.4 Famili Gen Responsif terhadap Cekaman Logam Berat Cd.....	48
Tabel 4.5 Ekspresi Gen Responsif Logam Berat Cd pada Tumbuhan Jewawut.....	56

DAFTAR AKRONIM

A	Aparatus Golgi
ALAD	<i>Amino-levulinic Acid Dehydratase</i>
APRT	<i>Adenine Phospho-Ribosyl Transferase</i>
APX	<i>Ascorbate Peroxidase</i>
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
CAT	<i>Catalase</i>
CAX	<i>Cation/H⁺ Antiporter Exchanger</i>
CDF	<i>Cation Difusion Facilitator</i>
Chl	<i>Chlorophyll</i>
Chl-Cd	<i>Chlorophyll-Cadmium</i>
DNA	<i>Deoxyribose Nucleic Acid</i>
EF-1 α	<i>Elongation Factor 1α</i>
FW	<i>Fresh Weight</i>
GB	<i>Glycine Betaine</i>
GFP	<i>Green Fluorescence Protein</i>
HMA	<i>Heavy Metal ATPase</i>
HNE	<i>Hydroxynonenal</i>
HSP	Hari Setelah Panen
HST	Hari Setelah Tanam
IRT	<i>Iron-Regulated metal Transporter-like protein</i>
LAF	<i>Laminar Air Flow</i>
LIPI	Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
MG	<i>Methylglyoxal</i>
MRP	<i>Multidrug Resistance-associated Protein</i>
MT	<i>Metalothioneine</i>
MTP	<i>Metal Tollerance Protein</i>
NRAMP	<i>Natural Resistance-Associated Macro-phage Protein</i>
<i>OsHMA</i>	<i>Oryza sativa Heavy Metal ATPase (gene)</i>
P	<i>Plasma Membrane</i>
PC	<i>Phycochelatine</i>
PCD	<i>Programed Cell Death</i>

PCS	<i>Phycochelatine Synthetase</i>
PG	<i>Postaglobule</i>
POD	<i>Peroxidase</i>
PRI	<i>Proliferation Rate Index</i>
PUFA	<i>Poly-unsaturated Fatty Acid</i>
RAPD	<i>Random Amplified Polymorphism DNA</i>
RNA	<i>Ribose Nucleic Acid</i>
RNA Pol	<i>RNA Polimerase</i>
ROS	<i>Reactive Oxigen Species</i>
SG	<i>Starch Grain</i>
<i>SiCAX</i>	<i>Setaria italica Cation/H⁺ Antiporter Exchanger (gene)</i>
<i>SiHMA</i>	<i>Setaria italica Heavy Metal ATPase (gene)</i>
<i>SiIRT</i>	<i>Setaria italica Iron-Regulated Transporter (gene)</i>
<i>SiMTP</i>	<i>Setaria italica Metal Tolerance Protein (gene)</i>
<i>SiNRAMP</i>	<i>Setaria italica Natural Resistance-Associated Macro-phage Protein Protein (gene)</i>
<i>SiZIP</i>	<i>Setaria italica Zinc Regulated Transporter (gene)</i>
SOD	<i>Superoxide Dismutase</i>
<i>TaHMA</i>	<i>Triticum aestivum Heavy Metal ATPase (gene)</i>
TF	<i>Tanscription Factor</i>
TLF	<i>Translation Factor</i>
V	<i>Vacuole</i>
YSL	<i>Yellow Stripe-Like protein</i>
ZIP	<i>Zinc-Regulated metal Transporter-like protein</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1 Komposisi AB Mix	81
Lampiran 2 Perlakuan Cekaman Cd	82
Lampiran 3 Hasil Uji ANOVA <i>one way</i>	85
Lampiran 4 <i>Coding sequence SiNRAMP1</i>	88
Lampiran 5 <i>Coding sequence SiNRAMP6</i>	90
Lampiran 6 <i>Coding Sequence SiMTP1</i>	92
Lampiran 7 <i>Coding Sequence SiMTP12</i>	93
Lampiran 8 <i>Coding Sequence SiCAX2</i>	94
Lampiran 9 <i>Coding Sequence SiZIP4</i>	95
Lampiran 10 <i>Coding Sequence SiIRT1</i>	97
Lampiran 11 <i>Coding Sequence SiIRT2</i>	98
Lampiran 12 <i>Coding Sequence SiHMA2</i>	99
Lampiran 13 <i>Coding Sequence SiHMA3</i>	102
Lampiran 14 <i>Coding Sequence SiHMA4</i>	104

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jewawut (*Setaria italica*) merupakan tanaman biji-bijian familia poaceae dengan jalur fotosintesis C₄ yang sudah dibudidayakan lebih dari 8000 tahun yang lalu di wilayah China Utara (Jia dkk., 2013, dan Prasad, 2017). Berdasarkan koleksi data Herbarium Bogoriense Indonesia diperkirakan pada awal tahun 1900an jewawut terdistribusi di Sulawesi, Jawa, Sumatra Selatan, Kalimantan, sebagian kecil Pulau Sunda, Maluku dan Papua. Tanaman ini umumnya dimanfaatkan sebagai pakan burung, meski faktanya tanaman ini mengandung serat yang tinggi namun rendah protein (Yulita dan Ridwan, 2018). Di beberapa daerah seperti di Pulau Buru, Maluku tanaman ini termasuk ke dalam jenis tanaman pangan unggul lokal yang dikonsumsi oleh masyarakat (Herodian dkk., 2009). Biji jewawut mengandung karbohidrat berkisar dari 60-80%, vitamin serta mengandung mineral seperti kalsium, besi, magnesium, fosfor, seng dan kalium. Kandungan gizi dari jewawut tiga hingga lima kali lebih baik dari beras dan gandum (Soeka dan Sulistiani, 2017) Jewawut tumbuh pada habitat arid dan semiarid serta diketahui memiliki toleransi tinggi terhadap kondisi lingkungan marjinal, tanaman ini juga mampu tumbuh dengan baik pada berbagai jenis tanah, dari tanah berpasir hingga tanah liat bahkan pada daerah berbatu di lereng bukit (Herodian dkk., 2009, dan Ridwan dkk., 2018). Selain keunggulannya di bidang alternatif pangan, jewawut memiliki potensi untuk produksi biofuel (Zhang dkk., 2012).

Terdapat banyak aksesori yang dibudidayakan oleh petani Indonesia yang masing-masing memiliki karakter morfologi berbeda-beda. Di Maluku aksesori yang banyak dikembangkan adalah aks. Buru Merah dan Buru Kuning. Aksesori Buru Merah memiliki keragaan dan viabilitas yang

lebih tinggi dibandingkan aksesinya. Beberapa penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa tanaman jiwawut memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap cekaman lingkungan, seperti cekaman kekeringan dan cekaman salinitas (Ridwan dkk., 2018). Meskipun demikian, penelitian mengenai mekanisme respon tanaman jiwawut terhadap cekaman logam berat belum banyak dilakukan meski pada beberapa wilayah pertanian tanaman jiwawut ini sendiri, seperti pada Pulau Buru yang berada di sekitar Teluk Ambon, memiliki sumber air yang tercemar oleh logam berat Cd dan Pb (Tupan dan Unepetty, 2017), cemaran Cd diduga berasal dari proses abrasi dari sungai, aktivitas pembuangan sampah oleh masyarakat serta aktivitas perbaikan dan pengecatan kapal (Rumahlatu, 2011). Di samping itu, logam berat Cd juga dapat berasal dari penggunaan pupuk kimia yang sering digunakan dalam pertanian, yang mana kandungan fosfat di dalam pupuk tersebut berasal dari batuan fosfat yang secara alamiah mengandung logam berat Cd. Beberapa penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa penggunaan pupuk fosfat dalam lahan pertanian dapat meningkatkan kandungan Cd dalam tanah. Kontaminasi Cd di tanah inilah yang kemudian mampu meningkatkan residu Cd pada tanaman yang tumbuh di sekitarnya (Dharma-wardana, 2018) dikhawatirkan serapan Cd yang terakumulasi pada bagian tanaman akan mengakibatkan beberapa masalah serius setelah dikonsumsi.

Di samping itu cekaman logam berat merupakan faktor pembatas yang menyebabkan penurunan produktivitas hasil pertanian (Gupta dan Corpas, 2013). Pencemaran ini juga banyak terjadi di beberapa wilayah lain di Indonesia seperti Sumatra, Jawa, Bali, Kalimantan, Sulawesi dan Papua. Pencemaran ini berasal dari pembuangan limbah industri dan rumah tangga ke sungai, pertambangan serta aplikasi pupuk dan pestisida kimia secara berlebihan (Sutrisno dan Kuntastyuti, 2015). Logam berat pada lahan pertanian selanjutnya akan diserap oleh tanaman dan terakumulasi di

bagian akar, daun, buah, maupun biji (Cui dkk., 2014). Berdasarkan data dari *US Environmental Protection Agency* (EPA), Cd merupakan sumber kontaminan utama penyebab rusaknya lingkungan setelah merkuri (Hg) dan timbal (Pb) (James dkk., 2013). Kontaminasi Cd dapat menyebabkan gangguan pada ginjal serta pada konsentrasi tertentu dapat menyebabkan kerusakan pada organ lainnya seperti paru-paru dan jantung (Sutrisno dan Kuntastyuti, 2015).

Kadmium (Cd) merupakan mikronutrien non-esensial yang diabsorpsi melalui sistem perakaran dan ditransportasikan pada bagian aerial tanaman (Abozeid dkk., 2017). Akumulasi Cd pada tanaman dapat menyebabkan perubahan morfologi dan fisiologi tanaman (Bruno dkk., 2017). Efek toksisitas Cd pada tanaman dapat menyebabkan klorosis, *epinasty* serta deformasi struktur kloroplas (Gill dan Tuteja, 2011). Selain itu, akumulasi Cd berlebihan dapat menghambat penyerapan unsur hara (Pardo dkk., 2013), fotosintesis (Xue dkk., 2013), respirasi seluler dan metabolisme nitrogen (Bruno dkk., 2017). Templeton dan Liu (2010) juga melaporkan bahwa akumulasi Cd dapat menghambat kerja enzim, meningkatkan stress oksidatif dan menurunkan kadar antioksidan.

Selain aspek morfo-fisiologi, tanaman juga merespon pada level molekuler. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa cekaman logam berat menyebabkan perubahan pola ekspresi dari gen-gen responsif (Muneer dkk., 2014, Weng dkk., 2013) serta perubahan pada protein-protein yang terlibat dalam metabolisme (Zeng dkk., 2011).

Penelitian mengenai mekanisme respon tanaman Jewawut aksesori lokal Indonesia terhadap cekaman logam berat masih sangat terbatas. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui respon morfo-fisiologis serta molekuler tanaman Jewawut aks. Buru Merah pada kondisi tercekam logam berat Cd.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh cekaman logam berat Cd terhadap beberapa parameter morfo-fisiologi tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah?
2. Bagaimanakah pengaruh cekaman logam berat Cd terhadap ekspresi gen-gen yang responsif terhadap logam berat pada tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah?

1.3 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Aksesi tumbuhan Jewawut yang digunakan adalah aksesi Buru Merah yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Fisiologi, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, LIPI.
2. Kultivasi dan pemberian cekaman logam berat dilakukan dengan metode hidroponik sistem sumbu (*wick system*).

1.4 Tujuan

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh cekaman logam berat Cd terhadap tinggi tajuk tumbuhan, panjang akar, jumlah daun, jumlah tunas, biomassa malai dan kandungan klorofil
2. Mengetahui tingkat ketahanan tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah pada kondisi cekaman logam berat Cd

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai pengaruh cekaman logam berat Cd terhadap tinggi tajuk tumbuhan, panjang akar, jumlah daun, jumlah tunas, biomassa malai dan kadar klorofil pada tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah. Informasi tersebut selanjutnya dapat digunakan sebagai data awal untuk mengetahui ketahanan tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan ketahanan tanaman pangan di Indonesia terhadap logam berat Cd. Serta mengetahui bagaimanakah pengaruh cekaman logam berat Cd terhadap dinamika produksi MDA dan ekspresi dari gen-gen yang responsive terhadap Cd.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Jewawut

Jewawut termasuk ke dalam tumbuhan semusim yang tingginya dapat mencapai 2 m dengan malai yang rapat sehingga sering dijuluki dengan nama tumbuhan ekor rubah (foxtail millet). Tumbuhan ini termasuk ke dalam tumbuhan hermaphrodit dengan biji berbentuk bulat telur, melekat pada kelopak dan mahkota bunga. Tumbuhan ini memiliki banyak jenis dengan warna yang berbeda-beda seperti warna kuning pucat, jingga, merah, coklat atau hitam (Leonard dan Martin, 1988). Jewawut merupakan tumbuhan pangan alternatif pengganti beras yang dapat tumbuh dengan baik di lahan-lahan kering dan marginal. Hingga kini, tumbuhan tersebut ditanam dan dibudidayakan secara terbatas di Pulau Buru (Maluku) (Herodian dkk., 2009). Umur panen tumbuhan ini 75 – 90 hari setelah tanam, tergantung jenis tanah dan lingkungan tempat budidayanya. Waktu penumbuhan terbaik pada bulan Juli hingga pertengahan Agustus di daerah beriklim tropis (Krishiworld, 2005). Tumbuhan ini memiliki batang tunggal ataupun dengan sedikit anakan percabangan dengan bunga yang lebih besar dari batangnya tersebut. Malai sebenarnya adalah lanjutan dari batang, hanya saja tumbuh cabang-cabang yang semakin ujung posisinya semakin kompak. Cabang terdiri dari koloni kulit ari yang berisi biji. Panjang malai rata-rata 15,2 cm dengan diameter 1,2 cm dan memiliki berat rata-rata 5,7 g per malai. Biji 1,7 mm, lebar 1,3 mm, dan ketebalan 1,1 mm (Gambar 2.1) (Herodian dkk., 2009).

Tumbuhan Jewawut di Indonesia memiliki beberapa aksesori dengan karakter khas masing-masing yang bermunculan sebagai hasil dari distribusi yang luas, seperti pada daerah Pulau Buru di Sulawesi, Jember, Enrekang, Sidrap, Maros, Polewali Mandar, Majene dan beberapa daerah

lainnya (Hijrianti dan Widodo, 2018). Keragaman karakter dari tiap aksesori merupakan gambaran dari adanya keragaman genetik, seperti yang diterangkan pada hasil penelitian Pratami (2019) bahwa kelima aksesori Jewawut koleksi Puslit Biologi LIPI, yakni Buru Merah, Buru Kuning, Polman Merah, Polman Kuning dan Gambir Manis memiliki keragaman genetik berdasarkan hasil amplifikasi menggunakan marka RAPD (*Rapid Amplified Polymorphism DNA*) yang mana pada daerah tumbuh yang relatif berdekatan memungkinkan individu memiliki koefisien genetik yang berdekatan pula, seperti pada aksesori Polman Merah dan Polman Kuning yang berasal dari daerah Polewali Mandar menjadi kluster yang paling dekat dengan derajat kemiripan sebesar 97,3%. Sehingga pemilihan aksesori untuk digunakan dalam penelitian lebih lanjut mengenai hubungan aksesori dengan perlakuan penelitian diperkirakan akan menunjukkan perbedaan yang jauh lebih nyata pada aksesori dengan kekerabatan genetik yang jauh.



Gambar 2.1 Morfologi Tumbuhan Jewawut (Prasad, 2017)

Keterangan gambar: (a) tegakan tumbuhan Jewawut (b) malai dan (c) biji

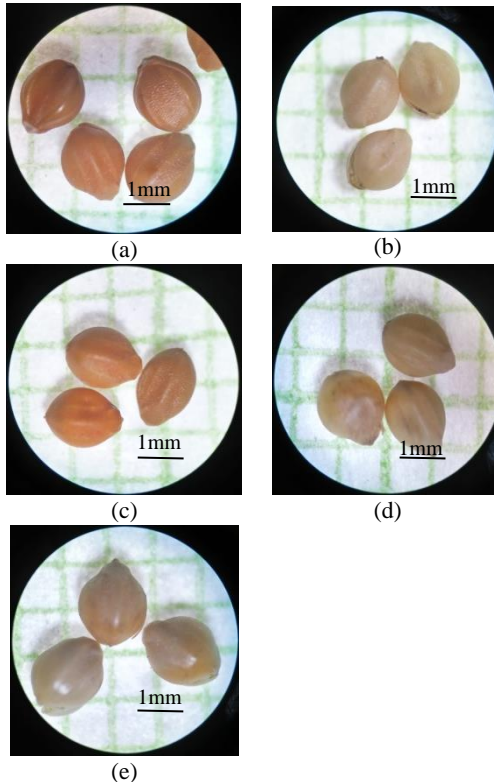
2.2 Klasifikasi dan Taksonomi

Menurut Moharil dkk (2019) taksonomi dari Jewawut (*S. italica*) adalah sebagai berikut:

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Classis	: Monocotiledoneae
Ordo	: Poales
Familia	: Poaceae
Subfamilia	: Panicoideae
Genus	: <i>Setaria</i>
Species	: <i>Setaria italica</i>

2.3 Aksesori Buru Merah

Tanaman jewawut yang berasal dari Pulau Buru Sulawesi terdapat dua jenis, yakni yang berbiji kuning dan merah (Gambar 2.2). Kedua jenis ini memiliki ketahanan yang cukup tinggi terhadap kondisi lingkungan yang kering (Mapikasari dkk., 2017). Aksesori Buru Merah memiliki waktu pertumbuhan yang lebih cepat dan peragaan yang baik dibandingkan dengan aksesori Buru Kuning serta aksesori yang berasal dari kepulauan Polewali Mandar (aksesori polman) dan Gambir Manis.



Gambar 2.2 Biji Jewawut (*S. italica*) (perbesaran 4,5 kali)

Keterangan gambar: (a) Aksesori Buru Merah (b) Aksesori Buru Kuning (c) Aksesori Polman Merah (d) Aksesori Polman Kuning (e) Aksesori Gambir Manis

2.4 Kadmium (Cd)

Kadmium adalah logam berwarna putih perak, mengkilap, tidak larut dalam basa, mudah bereaksi, serta menghasilkan Kadmium Oksida bila dipanaskan. Kadmium (Cd) umumnya terdapat dalam kombinasi dengan klor (Cd Klorida) atau belerang (Cd Sulfit). Kadmium membentuk Cd^{2+} yang bersifat tidak stabil. Unsur bernomor atom 40 ini memiliki berat atom sebesar 112,4, titik leleh sebesar 321°C,

titik didih sebesar 767°C dan memiliki masa jenis sebesar $8,65 \text{ g/cm}^3$ (Istarani dan Pandebesie, 2014). Kadmium (Cd) sering digunakan sebagai bahan utama ataupun tambahan dalam industri. Sampai dengan akhir abad 20,45% total pencemaran global adalah logam kadmium. Di balik itu kadmium merupakan logam berat yang sangat toksik bagi manusia, hewan maupun tumbuhan setelah merkuri (Hg) (Rahmadiani dan Aunurohim, 2013 dan Gupta dan Corpas, 2013). Logam ini masuk ke dalam lingkungan umumnya dari proses industri serta pupuk fosfat yang kemudian terserap oleh tumbuhan dan dialirkan ke hewan dan manusia melalui pola rantai makanan (Gupta dan Corpas, 2013). Logam berat ini merupakan elemen non-esensial yang membawa dampak negatif terhadap pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan (Benavides dkk., 2005). Kelarutannya yang tinggi di dalam air menyebabkan unsur ini mudah diserap oleh akar dan diangkut xilem ke daun (Roy Dkk., 2016).

2.5 Cekaman Logam Berat pada Tumbuhan

Cekaman kadmium (Cd) pada media tumbuh tanaman masih sangat sulit dideteksi pada beberapa jenis tanaman walaupun tanaman sudah mengakumulasi dalam jumlah yang banyak (Susana dan Suswati, 2011). Cekaman ini mengakibatkan akumulasi berlebih *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Methylglyoxal* (MG) yang menyebabkan peroksidasi lipid, oksidasi protein, inaktivasi enzim dan kerusakan DNA (Hossain dkk., 2012). Pada taraf toksisitas yang akut tumbuhan akan menunjukkan gejala berupa klorosis, tumbuhan menjadi layu, stimulasi metabolisme sekunder, lignifikasi, penurunan pertumbuhan dan kematian sel (Roy dkk., 2016). Akibatnya cekaman logam berat menjadi salah satu kendala dalam bidang pertanian sebab dapat menurunkan produktivitas dari tanaman (Hossain dkk., 2012).

2.6 Respon Tumbuhan terhadap Cekaman Logam Berat

2.6.1 Respon Morfologi

Kehadiran logam berat sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan lebih dari cekaman lingkungan lainnya. Respon morfologi dari cekaman logam berat kadmium dilaporkan meliputi penurunan produktivitas, tinggi tumbuhan, panjang akar dan luas daun, serta parameter biometrik lainnya (Farid dkk., 2013). Respon akar terhadap toksisitas kadmium meliputi pencoklatan warna akar, penurunan panjang dan produktivitas, serta pelebaran diameter. Pada daerah tajuk yang meliputi batang dan daun toksisitas kadmium mampu menyebabkan pengerdilan, klorosis, nekrosis dan pengeringan. Respon hasil akhir biji dan germinasi pada kondisi tercekam kadmium meliputi penurunan produktivitas biji yang dihasilkan tumbuhan, dapat berupa penurunan ukuran ataupun jumlahnya. Kadmium menghambat penyerapan air oleh benih dan mengurangi kadar air dalam biji, sehingga berdampak pada perkecambahan dan tegakan tumbuhan, yakni perubahan kecepatan dan tingkat perkecambahan (Shanying dkk., 2017). Pada penelitian sebelumnya oleh Kasmiyati dkk (2016) mengenai pencekaman Kromium (Cr) trivalent pada berbagai varietas Sorghum menunjukkan bahwa tumbuhan merespon dengan adanya penurunan biomassa, panjang radikula, akar dan ukuran semai pada keseluruhan varietas seiring dengan peningkatan konsentrasi logam berat yang digunakan untuk pencekaman. Serta pada penelitian Farooq dkk (2016) menunjukkan hasil yang sama yakni penurunan pada beberapa parameter tumbuh morfologi seperti tinggi tajuk tumbuhan, panjang akar, jumlah daun serta biomassa pada tumbuhan Kapas dalam keadaan cekaman logam berat Cd pada taraf $1\mu\text{M}$ dan $5\mu\text{M}$, namun dengan penambahan *Glycine-betaine* (GB) eksogen pada beberapa taraf cekaman dapat mengurangi pengaruh cekaman logam berat Cd pada parameter tersebut.

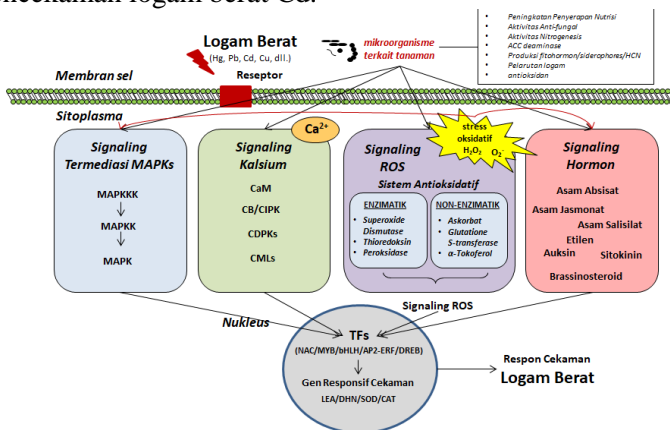
2.6.2 Respon Fisiologi

Cekaman logam berat Cd pada lingkungan pertumbuhan memberikan dampak yang nyata pada pertumbuhan sebab logam berat ini memiliki dampak toksisitas sebesar 2 hingga 20 kali lebih besar daripada logam berat lainnya. Respon fisiologis yang diberikan oleh tumbuhan di bagian signaling akar terhadap cekaman logam Cd adalah adanya induksi sintesis prolin dan protein baru tertentu dan penurunan aktivitas banyak enzim hidrolitik di akar (Farid dkk., 2013). Efek negatif dari Cd pada penghambatan laju fotosintesis (Shanying dkk., 2017) adalah karena terbatasnya akses CO₂ karena berkurangnya kandungan klorofil dan aktivitas enzimatik yang terlibat dalam fiksasi CO₂ menyebabkan penurunan laju fotosintesis dan juga gangguan dalam penyerapan dan distribusi nutrisi mineral pada tumbuhan. Pada kasus ini penurunan klorofil a jauh lebih tinggi dibandingkan dengan klorofil b. serta Cd mengurangi penyerapan air dan transportasi dengan menyebabkan hilangnya turgor melalui penurunan elastisitas dinding sel (Farid dkk., 2013). Pada beberapa parameter fisiologis tumbuhan Kapas dalam cekaman logam berat Cd yang dilakukan oleh Farooq dkk (2016) menunjukkan penurunan, yakni pada kadar klorofil a, klorofil b, karotenoid, laju fotosintesis, laju transpirasi seiring dengan peningkatan taraf konsentrasi logam berat Cd.

2.6.3 Respon Biokimia dan Biomolekuler

Respon biokimia dan biomolekuler yang ditunjukkan tumbuhan yang berada dalam cekaman logam berat kadmium adalah peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang nantinya memberikan dampak-dampak negatif lain bagi tumbuhan seperti kerusakan membran lipid yang dapat dimonitoring dengan pengukuran kadar MDA pada jaringan, serta kerusakan lain seperti oksidasi protein, penghambatan enzim dan kerusakan DNA serta RNA. Namun pada

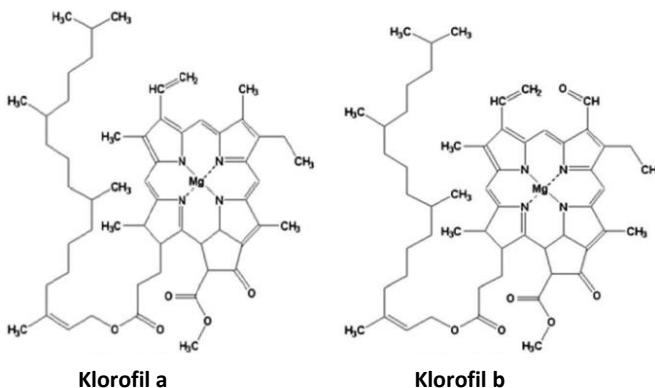
tumbuhan terdapat mekanisme pertahanan terhadap mekanisme toksisitas tersebut yakni dengan mengembangkan sistem antioksidan enzimatik dan non-enzimatik komposit untuk meminimalkan efek stres oksidatif, seperti peroksidase (POD), katalase (CAT), askorbat peroksidase (APX), antioksidan massa molekul rendah (glutathione reductase), askorbat, karotenoid dan enzim pemulih ROS, superoksida dismutase (SOD) (Gambar 2.3) (Farid dkk., 2013). Seperti pada penelitian sebelumnya oleh Farooq dkk (2016) mengenai cekaman logam berat Cd pada tanaman Kapas yang menunjukkan hasil yakni adanya peningkatan level MDA sebagai parameter ukur peroksidasi lipid membran sel serta peningkatan kadar enzim-enzim pendetoksifikasi radikal bebas seperti SOD (*Superoxide Dismutase*), POD (*Peroxidase*), APX (*Ascorbate Peroxidase*) dan CAT (*Catalase*) baik pada bagian daun maupun akar tanaman. Namun dengan penambahan osmolit GB (*glycine-betaine*) mampu menekan efek negatif yang diberikan oleh pencekaman logam berat Cd.



Gambar 2.3 Berbagai jalur respon sel tumbuhan terhadap influks logam berat ke dalam sel (Tiwari dan Lata, 2018).

2.7 Klorofil

Klorofil adalah pigmen hijau yang ditemukan di sebagian besar tumbuhan, alga dan *cyanobacteria* (Pareek dkk., 2018), nama klorofil berasal dari bahasa Yunani *chloros* (hijau) dan *phyllon* (daun). Ada beberapa bentuk klorofil, klorofil a merupakan pigmen fotosintesis utama pada tumbuhan hijau (Inanc, 2011 dan Pareek dkk., 2018) untuk transformasikan energi cahaya (foton) ke ikatan kimia (Kalaji dkk., 2017). Pigmen aksesori dalam fotosintesis mampu mentransfer energi cahaya ke Klorofil a (Gambar 2.4a). Beberapa di antaranya adalah klorofil b yang ditemukan pada tumbuhan kelas tinggi serta alga hijau (Gambar 2.4b), klorofil c yang ditemukan pada alga coklat dan diatom, klorofil d ditemukan pada alga merah dan klorofil f yang ditemukan pada *cyanobacteria*. Semua jenis klorofil memiliki sifat larut dalam minyak (Inanc, 2011 dan Pareek dkk., 2018).



Gambar 2.4 Struktur Kimia Klorofil a dan Klorofil b
(Pai dan Nair, 2015)

Dalam kondisi lingkungan tercekam logam berat atom sentral pada struktur kimia klorofil, yakni Mg, mampu mengalami substitusi oleh logam berat yang memiliki elektron valensi yang sama seperti Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+}

yang kemudian mampu menyebabkan kerusakan pada proses fotosintesis dan merupakan mekanisme kerusakan yang penting pada tanaman tercekam logam berat (Kupper dkk., 1998). Studi sebelumnya menyatakan bahwa Cd memiliki kecenderungan lebih tinggi dibandingkan dengan logam berat lainnya dalam melakukan substitusi Mg pada klorofil sehingga memiliki pengaruh tinggi terhadap kadar klorofil yang memiliki peran vital dalam proses fotosintesis (Yu dkk., 2017).

2.8 Malondialdehyde (MDA)

Stress oksidatif terjadi ketika ada terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan, sehingga mengakibatkan banyaknya produksi radikal atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat memberikan dampak langsung pada lipid (Ayala dkk., 2014), protein dan asam nukleat (Rosawanti dkk., 2015) khususnya *poly-unsaturated fatty acid* (PUFA) (Ayala dkk., 2014). Sedangkan kerusakan mayor yang disebabkan oleh ROS di dalam sel adalah peroksidasi lipid pada membran. (Rosawanti dkk., 2015). Peroksidasi lipid secara umum dapat digambarkan sebagai suatu proses dimana oksidan seperti radikal bebas atau ROS menyerang senyawa dengan ikatan karbon ganda (tidak jenuh) (Ayala dkk., 2014).

Produk primer dari peroksidasi lipid adalah *lipid hydroperoxyde* (-LOOH), sedangkan produk sekunder dari peroksidasi lipid dapat berupa *Malondialdehyde* (MDA), propanal, hexanal dan 4-hydroxynonenal (4-HNE). MDA menjadi produk sekunder peroksidasi lipid yang paling mutagenik sedangkan 4-HNE yang paling toksik (Ayala dkk., 2014). MDA diproduksi selama peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda oleh aksi ROS, sebagai akibat dari menipisnya sistem antioksidan. MDA mampu memodifikasi struktur fisik membran sel dan secara tidak langsung terlibat dalam sintesis

protein, DNA dan RNA. Selain itu MDA juga memiliki sifat mutagenik dan karsinogenik (Kapusta dkk., 2018).

MDA menjadi produk akhir yang stabil dari proses peroksidasi lipid yang dapat dijadikan sebagai pengukuran tidak langsung dari kumulatif peroksidasi lipid (Mao dkk, 2019). MDA dapat merefleksikan status kerusakan membran sel yang mengalami peroksidasi lipid (Zhou dkk., 2017). Senyawa ini mampu berinteraksi dengan beberapa nukleosida dan menghasilkan *adducts*, produk utama yang dihasilkan adalah pirimidopurinon yang disebut pyrimido, sehingga dapat juga dikatakan MDA adalah kontributor penting untuk kerusakan dan mutasi DNA. Mutasi-mutasi yang dihasilkan dapat berupa mutasi titik, *frameshift*, penundaan siklus sel dan induksi apoptosis (Ayala dkk., 2014).

2.9 Kultivasi Hidroponik

Hidroponik merupakan teknik ‘kultur air’ atau pengulturan dengan media air yang mulai dikembangkan dalam penelitian sejak abad ke 18. Pada awalnya kultur ini digunakan untuk mengetahui elemen pertumbuhan apa saja yang dibutuhkan oleh tanaman, namun seiring berkembangnya penelitian teknik yang kondisi dan kelimpahan nutrisinya lebih terkontrol ini digunakan dalam riset-riset mengenai mekanisme toksisitas nutrisi serta defisiensi pada perkembangan tanaman (Shavrukov dkk., 2012). Nutrisi standar yang biasa digunakan dalam kultur hidroponik adalah AB mix (Nugraha dan Susila, 2015 dan Wibowo dkk., 2017) dengan komponen-komponen penyusun sebagai berikut (Tabel 2.1 dan Lampiran 1):

Tabel 2.1 Komposisi Nutrisi AB Mix (Frasetya dkk., 2019)

Nutrisi	Komposisi
Larutan A	Ca(NO ₃) ₂
	KNO ₃
	Fe-EDTA
Larutan B	KH ₂ PO ₄
	MgSO ₄ .7H ₂ O
	MnSO ₄ .4H ₂ O
	CuSO ₄ .5H ₂ O
	ZnSO ₄ .7H ₂ O
	H ₃ BO ₃
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄
	Na ₂ O ₃ Si

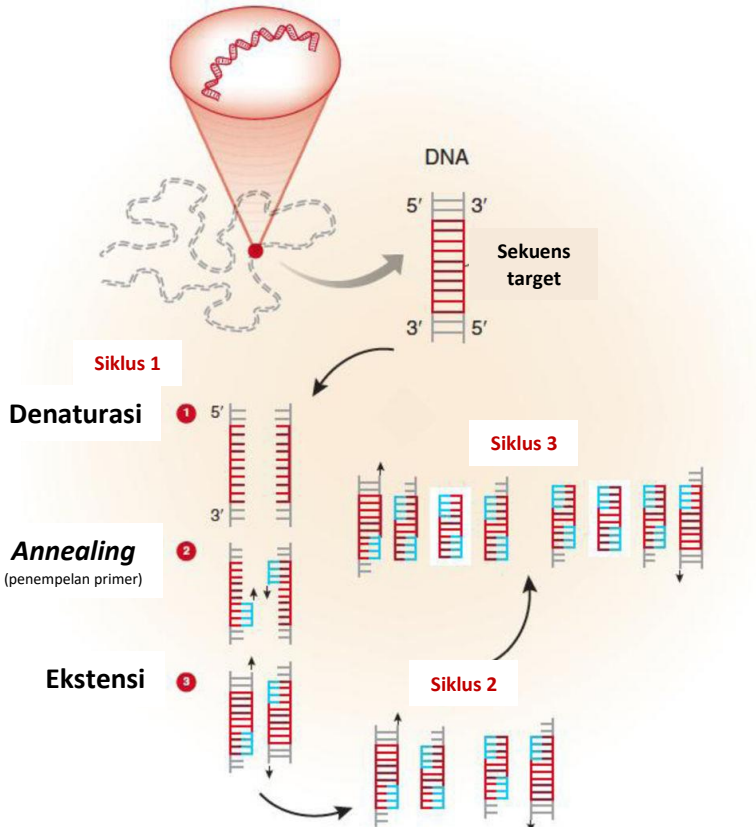
Hidroponik menggunakan sistem *wick* (sumbu) atau yang juga disebut dengan rakit apung merupakan salah satu teknik hidroponik dengan cara menanam tanaman di lubang *styrofoam* yang mengapung di atas permukaan larutan nutrisi dalam bak penampung (Kratky, 2009; Yunindanova dkk., 2018). Sistem ini memiliki kelebihan karena lebih mudah dalam pengaplikasiannya, tidak membutuhkan energi listrik, serta minim tenaga kerja, sehingga sistem ini dapat diterapkan dalam skala kecil di rumah tangga hingga skala besar (Yunindanova dkk., 2018).

2.10 Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah teknik berbasis molekuler yang digunakan untuk untuk mengamplifikasi sekuens DNA spesifik menjadi ribuan hingga jutaan kopi secara *in vitro* dengan dimediasi enzim (Saeed dan Saeed, 2013, Hewajuli dkk., 2014). Teknik ini ditemukan oleh Dr. Kary Mullis yang menyatakan bahwa

teknik ini dapat digunakan pada sampel apapun dan dibuat kopi segmennya sebanyak apapun (Mullis, 1990). Komponen yang perlu ada dalam reaksi ini adalah template DNA, primer *forward* dan primer *reverse*, nukleotida dan enzim DNA polimerase. Primer adalah fragmen DNA pendek dengan urutan tertentu yang komplemen terhadap template yang akan diamplifikasi sebagai titik perpanjangan oleh DNA polimerase. Enzim yang digunakan adalah DNA-*thermostable enzyme* yakni Taq polimerase, yang disintesis dari bakteri *Thermophilus aquaticus*, memiliki sifat tahan terhadap suhu ekstrem (Garibyan dan Avashia, 2013).

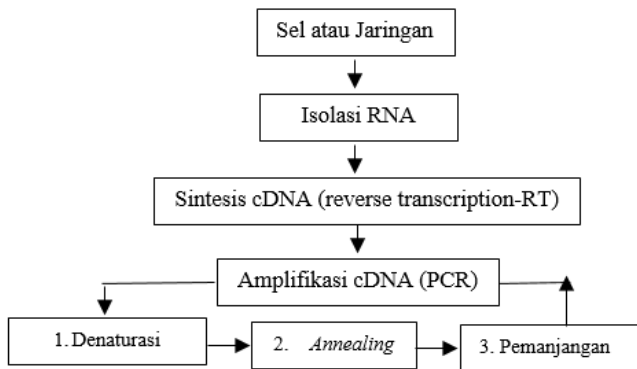
Terdapat tiga tahapan dasar di dalam teknik PCR, yakni *denaturation*, *annealing* dan *extension* (Gambar 2.5). Tahap pertama yaitu *denaturation*, template DNA yang digunakan dipatahkan ikatan hidrogennya pada temperatur yang tinggi, yakni pada 95°C sehingga DNA menjadi heliks tunggal. Kemudian pada tahap *annealing* sampel didinginkan pada temperatur 50°C hingga 60°C untuk melekatkan primer pada sekuens sampel yang komplemen dengan basa nitrogennya. Selanjutnya pada tahap *extension* suhu dinaikkan kembali hingga 72°C dan terjadi aktivitas enzimatik perangkaian nukleotida bebas di sepanjang template setelah situs komplemen dari primer oleh enzim *taq polymerase* (Saeed dan Saeed, 2013).



Gambar 2.5 Skema Prinsip Teknik PCR
(Garibyan dan Avashia, 2013)

Real Time-PCR (RT-PCR), suatu teknik yang mengikuti dasar-dasar umum PCR konvensional namun memungkinkan adanya pengukuran produk PCR secara *real time* ketika reaksi berlangsung. Analisis PCR *reverse transcriptase* RNA, juga dapat secara disingkat "RT-PCR", adalah analisis untuk mengukur RNA saja, di sini RNA disalin ke DNA komplementer (cDNA) dengan *reverse transcriptase*. Produk ini diamplifikasi oleh PCR yang memungkinkan pembentukan

untai DNA kedua atau komplementernya, yang selanjutnya dianalisis secara konvensional atau secara real time. Sehingga pada *Real Time-PCR* dengan adanya pengukuran secara nyata lebih sering disebut dengan *quantitative-PCR* (qPCR) (Saeed dan Saeed, 2013 dan Garibyan dan Avashia, 2013). Dasar kuantifikasi qPCR adalah mendeteksi jumlah produk genom yang mampu diamplifikasi secara *real time* melalui label fluoresensi yang diberikan oleh beberapa pewarna kimia seperti pewarna pengikat DNA spesifik, probe hidrolisis dan lain sebagainya, yang mengarah pada penciptaan kurva sigmoid fluoresensi (Mahboudi dkk., 2018). Metode qPCR terbagi atas dua jenis, yakni *probe-based qPCR* serta *intercalator-based qPCR*. *Probe-based qPCR* juga dikenal sebagai TaqMan PCR, membutuhkan sepasang primer PCR dan tambahan *probe* oligonukleotida fluorogenik dengan tambahan pewarna fluoresensi reporter dan pewarna quencher yang terangkai. Sedangkan metode *intercalator-based* (SYBR Green) membutuhkan pewarna DNA untai ganda di PCR yang mengikat DNA untai ganda hasil sintesis sehingga menghasilkan fluoresensi. Kedua metode ini membutuhkan *thermocycler* khusus yang dilengkapi dengan sensor yang memonitor fluoresensi pada setiap sampel pada interval yang rapat selama proses PCR. Prinsip yang mendasari qPCR adalah isolasi RNA total, transkripsi balik (RT), dan dilanjutkan dengan PCR (Gambar 2.6) (Mo dkk., 2012).



Gambar 2.6 Diagram Skematik dari Proses RT-PCR
(Santos dkk., 2004).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang menggabungkan data primer dan data sekunder yang diambil dari buku, jurnal penelitian, dan literatur-literatur ilmiah lainnya (Simanjutak dan Sosrodiharjo, 2014).

3.2 Sumber Data

Dalam penelitian ini peneliti menggabungkan antara dua data, yakni data primer dan sekunder untuk melengkapi data-data yang diperlukan dalam pemaparan hasil. Adapun sumber-sumbernya adalah sebagai berikut:

1. Sumber Primer adalah suatu data yang dijadikan acuan utama dari penelitian. Sumber primer yang digunakan dalam penelitian ini adalah data yang diambil langsung (data primer) yang meliputi data Respon Morfologi (tinggi tajuk tanaman, panjang akar, jumlah daun, jumlah tunas dan biomassa malai) dan Respon Fisiologis (kadar klorofil) dan data yang didapatkan dari literatur (data sekunder) mengenai kadar MDA (*malondialdehyde*) serta Respon Molekuler (ekspresi gen yang responsif terhadap cekaman Cd). Data parameter respon molekuler yang digunakan merupakan data yang menggunakan analisis transkriptomik *quantitative* RT-PCR.
2. Sumber Sekunder adalah referensi-referensi pendukung atau pelengkap bagi sumber-sumber primer. Adapun sumber sekunder yang digunakan dalam penelitian ini adalah beberapa buku dan jurnal ilmiah mengenai:
 - a. Karakteristik dan potensi Tanaman Jewawut (*Setaria italica*)
 - b. Pengaruh cekaman logam berat Cd
 - c. Respon tanaman terhadap cekaman logam berat

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Januari hingga Maret 2020 yang bertempat di *Screen house* Urban Farming ITS dan Laboratorium Biosains dan Teknologi Tumbuhan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

3.4 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu Erlenmeyer, gelas Beaker, gelas ukur, tabung reaksi, pipet tetes, aluminium foil, botol falcon 15 mL, pinset, cawan Petri, rak tabung, bak air, gabus, penggaris, kain flanel, *freezer*, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), *sentrifuse* dan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih tanaman Jewawut, nutrisi hidroponik ABmix, kapas lemak, *rockwool*, CdCl₂, alkohol 70%, aseton 80%, air dan *double distilled* H₂O.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Kultivasi *S. italica*

Benih jewawut yang sudah berkecambah selama 5 hari ditanam pada sistem hidroponik. Sebelumnya dipersiapkan 8 sistem bak hidroponik yang diisi medium pertumbuhan ABmix, setiap kelompok perlakuan menggunakan 2 bak sebagai wadah kultur. Sistem hidroponik yang digunakan adalah sistem sumbu (*wick*), yang mana media tidak mendapatkan aerasi dan pengaliran air, media berupa air tenang di dalam sistem bak yang dialirkan ke *rockwool* melalui kapilaritas pada kain sumbu.

Konsentrasi Cd yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0 μM (kontrol), 0,5 μM , 1,0 μM , dan 1,5 μM dengan pengulangan sebanyak 9 kali. Sedangkan benih yang digunakan berasal dari Laboratorium Fisiologi, Bidang Botani, LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) yaitu aks. Buru Merah yang berasal dari Pulau Buru.

3.5.2 Pemberian Cekaman Logam Berat

Pemberian cekaman logam berat Cd dilakukan setelah tumbuhan tumbuh hingga berusia 14 HST (Hari Setelah Tanam) di saat morfologi tumbuhan sudah sekiranya adaptif untuk mendapatkan cekaman lingkungan, tumbuhan jewawut memiliki tinggi 35 cm dengan rerata jumlah daun 7 helai. Logam berat yang diberikan berupa larutan CdCl_2 yang dihomogenkan dengan medium tanam hidroponik. Pemberian cekaman dilangsungkan selama 3 minggu.

3.5.3 Uji Kandungan Klorofil

Uji kadar klorofil dilakukan menggunakan sampel daun jewawut yang diambil sebanyak 0,1 g untuk setiap uji kadar klorofil a, klorofil b dan total klorofil. Sampel dihaluskan terlebih dahulu kemudian dihomogenkan menggunakan pelarut aseton 80% sebanyak 2 ml. kemudian homogenate dipindahkan ke dalam gelas ukur dan ditera menggunakan pelarut aseton 80% hingga menunjukkan Vol.ume 10 ml lalu disentrifugasi pada kecepatan 2.500 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian absorbansinya dibaca menggunakan $\lambda = 480 \text{ nm}$, 510 nm, 645 nm dan 663 nm (Kurniawan dkk., 2010).

Hasil absorbansi yang diperoleh digunakan untuk mengukur kadar klorofil a, klorofil dan total klorofil dengan rumus sebagai berikut (Rajput dan Patil, 2016):

$$\text{Klorofil a mg/g FW} = \frac{(12.7[A663] - 2.69[A645])(V)(W)}{1000}$$

$$\text{Klorofil b mg/g FW} = \frac{(22.9[A645] - 4.68[A663])(V)(W)}{1000}$$

$$\text{Total Klorofil mg/g FW} = \frac{(20,2[A645] - 8.02[A663])(V)(W)}{1000}$$

Keterangan:

A: Absorbansi pada panjang gelombang spesifik

V: Volume akhir ekstrak

W: Berat basah sampel yang diekstrak

3.6 Metode Pengumpulan Data Sekunder

Penelitian yang dilakukan menggunakan metode pengumpulan data kepustakaan dengan pemilihan dan pencarian yang kemudian disajikan dan dianalisis. Data sekunder yang digunakan dalam penelitian ini membutuhkan tindakan pengolahan secara filosofis dan teoritis. Kajian literatur yang dilakukan adalah studi pustaka tanpa disertai uji empirik (Muhajdir, 1998). Data kemudian disajikan dalam bentuk uraian yang ringkas dan sistematis.

Pengumpulan data yang dilakukan dalam penelitian ini adalah upaya pengumpulan beberapa literatur terkait pengaruh cekaman logam berat Cd terhadap tumbuhan dan respon molekuler tumbuhan terhadap cekaman logam berat Cd tersebut. Data yang telah dikumpulkan kemudian diseleksi, dianalisis dan disajikan secara ringkas dan sistematis.

3.7 Teknik Analisis Data

Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 ulangan, yakni tumbuhan dengan keragaan terbaik (bebas serangan hama atau cekaman

biotik lainnya). Pemberian perlakuan dilakukan selama 4 minggu setelah tumbuhan berusia 14 HST. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari analisis kuantitatif dan kualitatif. Parameter morfo-fisiologi meliputi tinggi tajuk, panjang akar, jumlah daun, jumlah tunas, biomassa malai dan kandungan klorofil apabila didapatkan data normal dalam penelitian maka akan dilanjutkan pada analisis statistika menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) *one way* pada taraf kepercayaan 95% menggunakan *software* SPSS *series* 25. Sedangkan parameter molekuler berupa data ekspresi genetik beberapa gen responsif terhadap cekaman logam berat Cd akan didapatkan dari berbagai literatur yang telah dikumpulkan, diseleksi, kemudian dilakukan pengorganisasian data dan dijabarkan secara lebih sederhana dan sistematis (Anggito dan Setiawan, 2018). Teknik analisis yang digunakan untuk data sekunder berupa analisis isi (*content analysis*) yang merupakan analisis ilmiah mengenai isi pesan suatu data (Muhadjir, 1998).

Hipotesis yang digunakan pada data primer penelitian ini adalah sebagai berikut:

H_0 : variasi konsentrasi Cd tidak berpengaruh terhadap morfo-fisiologi tumbuhan Jewawut

H_1 : variasi konsentrasi Cd berpengaruh terhadap morfo-fisiologi tumbuhan Jewawut

Jika terdapat satu atau lebih perlakuan yang memberikan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol, maka H_0 ditolak, atau dinyatakan konsentrasi Cd yang berbeda memberi pengaruh terhadap morfo-fisiologi tumbuhan. Jika H_0 ditolak maka dilanjutkan dengan uji Tukey dengan taraf kepercayaan 95% menggunakan *software* SPSS *series* 25.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Respon Morfologi

Berdasarkan uji ANOVA *one way* pemberian perlakuan cekaman logam berat Cd pada beberapa konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh nyata terhadap morfologi umbuhan Jewawut aksesi Buru Merah dari parameter tinggi tajuk umbuhan, panjang akar, jumlah daun, jumlah tunas dan biomassa malai (P value $< 0,05$) (Tabel 4.1). Keberadaan logam berat pada media tanam dilaporkan mampu memberikan dampak negatif terhadap morfologi atau visual umbuhan, seperti penurunan biomassa, tinggi umbuhan, panjang akar dan luas daun (Farid dkk., 2013, Jadid dkk., 2017), Shanying dkk (2017) melaporkan bahwa cekaman logam berat kadmium (Cd) pada rentang konsentrasi yang tinggi mampu menyebabkan pengkerdilan, klorosis, nekrosis, serta gangguan homeostasis pada organ umbuhan. Respon lainnya yakni biji yang dihasilkan juga akan mengalami penurunan ukuran ataupun jumlahnya. Hal ini selanjutnya akan berdampak pada penurunan produktivitas umbuhan, utamanya pada umbuhan yang nilai ekonomisnya pada organ biji seperti umbuhan serealia.

Pertumbuhan akar dan warna daun juga merupakan parameter morfologi yang penting untuk diamati ketika umbuhan tercekam logam berat. Hal ini berhubungan erat dengan metabolisme sel tumbuhan (Rosidah dkk., 2014). Menurut Juhriah (2017) tingginya akumulasi logam berat dalam organ umbuhan dapat menghambat laju metabolisme di dalam sel sehingga menurunkan produktivitas umbuhan itu sendiri. Kadmium dapat menghambat pertumbuhan benih, perkembangan akar dan organ tumbuhan lainnya, serta dapat mengakibatkan mutasi kloroplas pada taraf konsentrasi yang sangat tinggi (Zhou dkk., 2012).

Tabel 4.1 Rata-rata Respon Morfologi Tanaman JEWAWUT terhadap Cekaman Cd

Peubah Pengamatan	Konsentrasi Cd			
	Kontrol	0,5 μ M	1,0 μ M	1,5 μ M
Tinggi Tajuk (cm)	119,29 \pm 0,44 ^d	110,5 \pm 0,21 ^c	96,49 \pm 0,30 ^b	84,34 \pm 0,37 ^a
Panjang Akar (cm)	26,1 \pm 0,40 ^d	21,91 \pm 0,421 ^c	17,04 \pm 0,40 ^b	14,13 \pm 0,42 ^a
Jumlah Daun	11,33 \pm 0,33 ^c	8,11 \pm 0,26 ^b	7,33 \pm 0,26 ^b	6,11 \pm 0,26 ^a
Jumlah Tunas	2,89 \pm 0,26 ^c	2,11 \pm 0,26 ^{cb}	1,89 \pm 0,26 ^b	0,89 \pm 0,26 ^a
Biomasa Malai (gr)	27,36 \pm 0,22 ^d	11,25 \pm 0,13 ^c	10,25 \pm 0,25 ^b	8,54 \pm 0,20 ^a

Hasilnya dinyatakan sebagai mean \pm SD. Huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan yang signifikan antara perlakuan pada $P < 0,05$

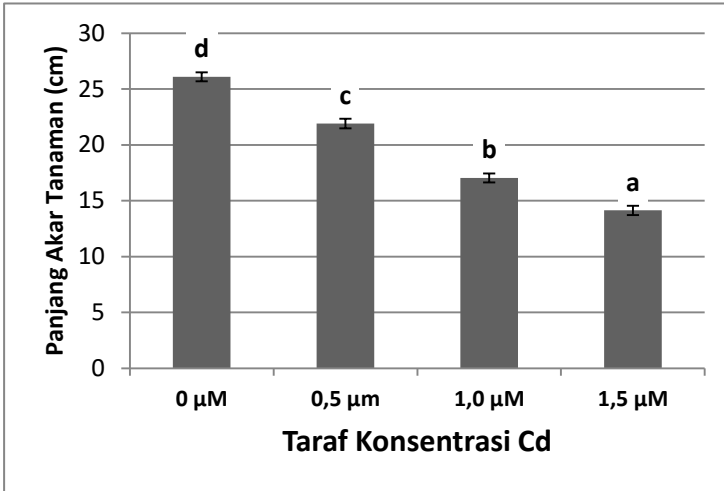
4.1.1 Pengaruh Cd terhadap Tinggi Tajuk dan Panjang Akar Tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah

Berdasarkan uji *posthoc* Tukey diperoleh hasil bahwa pemberian perlakuan cekaman Cd dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh signifikan terhadap tinggi tajuk tumbuhan (Tabel 4.1 dan Gambar 4.1). Rerata tinggi tajuk tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah pada kelompok perlakuan cekaman Cd 0,5 μM , 1,0 μM serta 1,5 μM mengalami penurunan sebesar 7,37%, 19,12% dan 29,29% dibandingkan dengan kontrol. Tian dkk (2017) melaporkan bahwa tinggi tajuk tumbuhan Jewawut kultivar Jingu-21 juga mengalami penurunan secara signifikan pada perlakuan cekaman Cd 200 μM pada periode semai dibandingkan dengan kontrol sebesar 6,8%, penurunan sebesar 61,17% pada tanaman kapas dalam kondisi cekaman Cd 5 μM (Farooq dkk., 2016), serta penurunan sebesar 42,1% dan 50,3% pada tanaman Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) kultivar Fuhong 991 dan ZM412 pada kondisi pencekaman Cd 120 μM pada media pertumbuhan hidroponik selama 3 minggu (Li dkk., 2013).

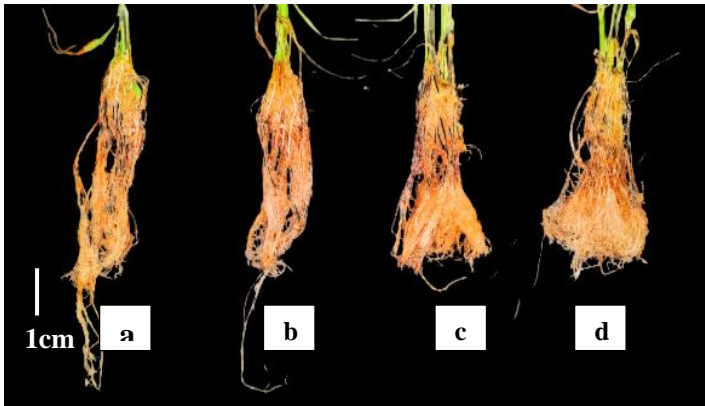


Gambar 4.1 Morfologi Tumbuhan Jewawut (*S. italica*) setelah mengalami Cekaman Cd selama 28 hari, usia tanam 42 HST (a: kontrol, b: 0,5 μM , c: 1,0 μM , d: 1,5 μM)

Selain itu peningkatan taraf konsentrasi Cd yang diberikan pada tanaman Jewawut aks. Buru Merah juga direspon dengan penurunan panjang akar yang signifikan pada peningkatan konsentrasi pemberian Cd (Tabel 4.1). Rata-rata panjang akar tumbuhan kontrol dapat mencapai 26,1 cm sedangkan perlakuan yang memiliki rata-rata panjang akar paling pendek adalah pada taraf Cd 1,5 μM yakni 14,133 cm yang menunjukkan penurunan sebesar 45,85% (Gambar 4.2 dan Gambar 4.3). Pertumbuhan panjang akar merupakan indikator besar-tidaknya efek cekaman logam berat terhadap akar (Rosidah dkk., 2014). Beberapa penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa Cd mampu menurunkan pertumbuhan panjang akar tanaman, seperti pada tanaman Jewawut kultivar Jingu-21 pada cekaman Cd 200 μM yang diberikan selama 48 jam mengalami penurunan sebesar 15% (Tian dkk., 2017), penurunan sebesar 63,41% pada tanaman kapas dalam kondisi cekaman Cd 5 μM , serta penurunan sebesar 17,3% dan 69,2% pada tanaman Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) kultivar Fuhong 991 dan ZM412 pada kondisi cekaman Cd 120 μM pada media pertumbuhan hidroponik selama 3 minggu (Li dkk., 2013).

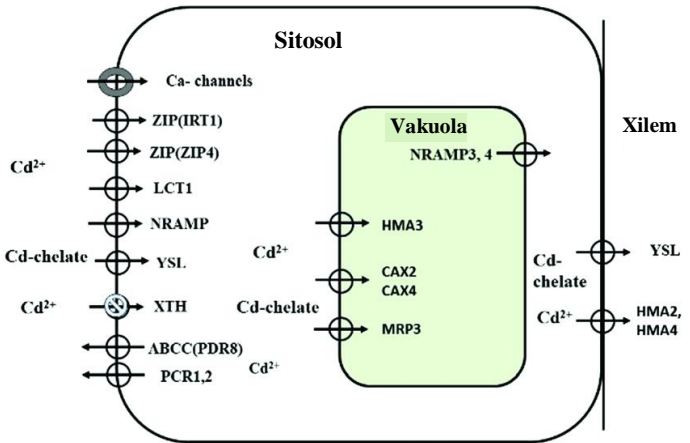


Gambar 4.2 Grafik Panjang Akar Tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah



Gambar 4.3. Morfologi Akar Tumbuhan Jewawut setelah mengalami Cekaman Cd selama 28 hari, usia tanam 42 HST (a: kontrol, b: 0,5 μM , c: 1,0 μM , d: 1,5 μM)

Logam berat Cd mampu menghambat penyerapan beberapa nutrisi yang dibutuhkan tanaman seperti P (fosfor), K (potasium), Ca (kalsium), Fe (besi) dan Zn (seng) oleh akar tanaman (Jiang dkk., 2004) dengan menurunkan selektivitas transporternya (Rosidah dkk., 2014). Kadmium yang masuk ke dalam sel akar melalui transporter tersebut selanjutnya akan menghalangi masuknya ion logam esensial lainnya (Thomine dkk., 2000 dan Caetano dkk., 2015). Umumnya, transpor Cd terjadi melalui transporter Fe seperti IRT (*Iron-Regulated metal Transporter-like protein*), YSL (*Yellow Stripe-Like protein*) dan NRAMP (*Natural Resistance-Associated Macrophage Protein*) yang terletak pada membran plasma sel epidermis akar (Takahashi dkk., 2012 dan Huang dkk., 2020) seperti ditunjukkan oleh Gambar 4.4. Transportasi Cd^{2+} ke dalam sel ini terjadi secara aktif dan pasif (Ismael dkk., 2018).

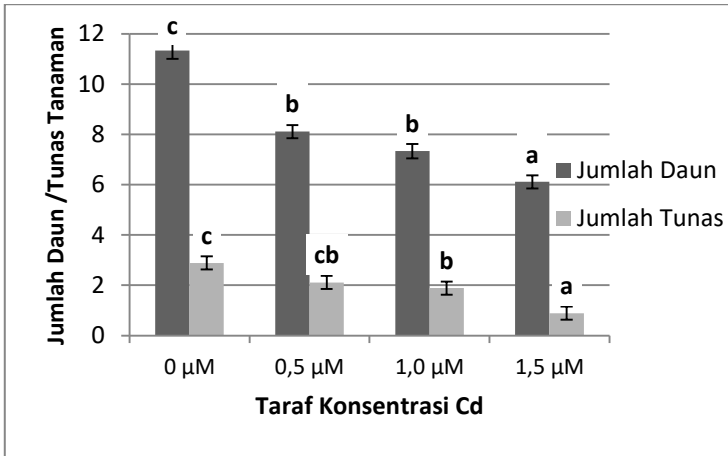


Gambar 4.4. Transporter yang Responsibel terhadap Influks dan Efluks Cd (Ismael dkk., 2018)

Kompetisi absorpsi Fe dan Cd menyebabkan gejala tanaman yang mengalami gangguan pada kedua jenis mineral ini hampir serupa. Defisiensi mikronutrien seperti ion Fe mampu mempengaruhi kondisi fisiologis tanaman dengan mengganggu aktivitas enzimatis dan metabolisme sel (Dobermann dan Fairhurst, 2000, Rout dan Sahoo, 2015). Di samping defisiensi Fe, akses Cd melalui transporter Zn juga mampu menurunkan influks Zn ke dalam sel tanaman. Salah satu efek yang mampu disebabkan oleh defisiensi Zn adalah penurunan hormon auksin (Taiz dan Zeiger, 2006). Akibatnya penurunan hormon auksin ini dapat menurunkan laju pertumbuhan primer tanaman, khususnya pada bagian akar tanaman (Overvoorde dkk., 2010).

4.1.2 Pengaruh Cd terhadap Jumlah Daun dan Tunas Tumbuhan Jewawut aksesori Buru Merah

Cekaman Cd juga berpengaruh terhadap jumlah daun dan tunas tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah (P value < 0,05) (Tabel 4.1). Rata-rata jumlah daun paling sedikit yaitu 6.11 yang dihasilkan oleh kelompok perlakuan pencekaman Cd pada taraf konsentrasi 1,5 μM yang menunjukkan penurunan sebesar 46,08% dibandingkan dengan kontrol. Diikuti dengan 35,29% pada kelompok perlakuan Cd 1,0 μM , 28,43% yang tidak berbeda nyata (Gambar 4.5). Jumlah tunas yang paling rendah juga pada kelompok perlakuan cekaman Cd 1,5 μM yakni sebesar 0,89 atau penurunan sebesar 69,23% dibandingkan dengan kontrol (Gambar 4.5). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaruh negatif cekaman Cd terhadap jumlah tunas dan daun tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi Cd yang diberikan. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa jumlah daun pada tanaman kapas mengalami penurunan yang tinggi yakni sebesar 72,12% pada konsentrasi Cd sebesar 5 μM dibandingkan dengan kontrol (Farooq dkk., 2016). Penurunan jumlah daun dan tunas ini dapat disebabkan karena Cd pada konsentrasi yang tinggi mampu mempengaruhi aktivitas pembelahan sel tumbuhan (Zhou dkk., 2012).



Gambar 4.5 Grafik Jumlah Daun dan Tunas Tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah

Kadmium yang masuk ke dalam sel akan berinteraksi dengan gugus sulfhidril (-SH) pada residu sistein yang ada pada protein tubulin. Hal ini dapat berpengaruh pada formasi mikrotubul dan mengganggu pembelahan sel. Monterio dkk (2012) mengungkapkan bahwa pada konsentrasi yang rendah Cd akan memblokir proses *checkpoint* pembelahan sel pada fase G2/M, sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi Cd akan menghambat fase S pada pembelahan sel. Selanjutnya hal tersebut berakibat pada proses organogenesis (Huybrechts dkk., 2019). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Monterio dkk (2012) juga menjelaskan bahwa multiplikasi tunas dan daun akan menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi Cd yang diberikan. Pada pemberian cekaman Cd sebesar 10 µM tanaman selada (*Lactuca sativa* L.) mampu menurunkan indeks proliferasi (*PRI*) sebesar 25% dibandingkan dengan kontrol. Pada tingkat kerusakan yang tinggi sel akan melakukan apoptosis/*Programed Cell Death*

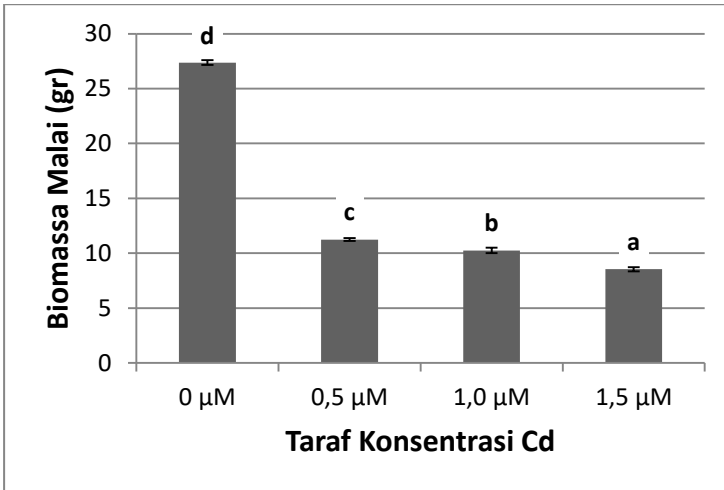
(PCD) atau terjadi aberasi kromosom seperti yang diterangkan sebelumnya. Selain itu hal tersebut selanjutnya dapat mengakibatkan penuaan (*senescence*) atau bahkan nekrosis.

4.1.3 Pengaruh Cd terhadap Biomassa Malai Tumbuhan Jewawut Aksesori Buru Merah

Cekaman Cd pada media tanam memberikan pengaruh nyata pada biomassa malai tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah semua kelompok perlakuan (Tabel 4.1 dan Gambar 4.6). Rerata biomassa malai tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah pada kelompok perlakuan cekaman Cd 0,5 μM , 1,0 μM serta 1,5 μM mengalami penurunan sebesar 58,9%, 62,55% dan 68,8% dibandingkan dengan kelompok kontrol pada usia 4 minggu setelah perlakuan (Gambar 4.7). Penelitian sebelumnya oleh Wei (2005) juga menunjukkan bahwa cekaman Cd menyebabkan penurunan biomassa tanaman *Solatum nigrum*. Hal serupa juga terjadi pada tanaman lain seperti tanaman Kenaf kultivar Fuhong991 (penurunan biomassa tajuk dan akar sebesar 41,46% dan 65,53%) serta kultivar ZM412 (penurunan biomassa tajuk dan akar sebesar 46,15% dan 62,04%) pada kondisi pencekaman Cd 120 μM selama 3 minggu (Li dkk., 2013).



Gambar 4.6. Morfologi Malai Tumbuhan Jewawut setelah mengalami Cekaman Cd selama 28 hari, usia tanam 42 HST (a: kontrol, b: 0,5 μM , c: 1,0 μM , d: 1,5 μM)



Gambar 4.7 Grafik Biomassa Malai Tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah

Seperti yang telah dijelaskan bahwa Cd menyebabkan tanaman mengalami defisiensi Fe. Defisiensi tersebut selanjutnya menghambat biosintesis klorofil. Penurunan kadar klorofil ini mengakibatkan gangguan pada proses-proses fisiologis seperti fotosintesis (Doberman dan Fairhurst, 2000, Rout dan Sahoo, 2015). Gejala yang dialami oleh tanaman yang tercekam logam berat Cd memiliki kemiripan dengan tanaman yang mengalami defisiensi ion Fe yakni mengalami klorosis. Keseluruhan lamina daun menguning sedangkan tulang daun memiliki sedikit warna hijau (Alves dkk., 2019). Hal ini terlihat jelas pada daun tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah yang diberi perlakuan Cd 0,5 µM (tulang daun berwarna hijau sedangkan laminanya berwarna kuning pucat). Sedangkan pada taraf 1,0 µM dan 1,5 µM lamina serta tulang daun berwarna kuning pucat dibandingkan dengan tumbuhan kontrol (Gambar 4.8 dan Lampiran 2).



Gambar 4.8 Morfologi Daun Tumbuhan Jewawut setelah mengalami Cekaman Cd selama 28 hari, usia tanam 42 HST (a: kontrol, b: 0,5 μM , c: 1,0 μM , d: 1,5 μM)

Gejala klorosis yang terjadi pada tumbuhan jewawut dengan perlakuan Cd makin tinggi seiring dengan meningkatnya taraf konsentrasi Cd yang diberikan pada medium pertumbuhan (Gambar 4.7). Pada taraf konsentrasi tertinggi (1,5 μM) keseluruhan lamina organ daun tanaman memiliki warna kuning pucat dengan bagian ujung daun mengalami nekrosis. Gejala klorosis daun ini juga merupakan karakter yang umum dijumpai pada tanaman yang mengalami defisiensi Fe. Hasil ini serupa dengan penelitian Alves dkk (2019) yang menyatakan bahwa gejala defisiensi Fe pada bunga matahari (*Helianthus annuus*) berupa klorosis pada lamina daun yang dimulai pada daun muda (dekat apikal). Beberapa daun yang masih memiliki pigmen hijau akan lebih cepat menguning di tahap *senescence* dibandingkan dengan kontrol. Klorosis ini berbanding lurus dengan penurunan biomassa malai yang dihasilkan oleh tanaman pada kondisi cekaman. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa malai

muncul pada kisaran waktu yang seragam, yakni pada minggu ketiga setelah tanam. Namun biomassa malai yang dihasilkan berbeda di setiap perlakuan. Biomassa malai terendah dihasilkan pada tumbuhan jiwawut yang terpapar Cd pada konsentrasi tertinggi (1,5 μM).

4.2 Respon Fisiologis

Selain respon morfologis, tumbuhan juga merespon melalui beberapa jalur fisiologis terhadap cekaman logam berat Cd. Respon fisiologis yang diberikan oleh tumbuhan terhadap cekaman logam Cd di antaranya adalah induksi sintesis prolin dan penurunan aktivitas enzim hidrolitik di organ akar (Farid dkk., 2013). Selain itu Cd juga memberikan efek negatif pada laju fotosintesis (Shanying dkk., 2017), penurunan kemampuan absorpsi CO_2 sebagai akibat terganggunya aktivitas enzimatik yang terlibat dalam fiksasi CO_2 , serta terhambatnya penyerapan dan distribusi nutrisi dalam sel. Hal ini selanjutnya berdampak pada menurunnya produktivitas tanaman. Farooq dkk (2016) juga menunjukkan bahwa tanaman yang terpapar Cd mengalami penurunan kadar klorofil a, klorofil b, karotenoid, laju fotosintesis, laju transpirasi serta peningkatan pada kadar MDA seiring dengan peningkatan taraf konsentrasi logam berat Cd.

4.2.1 Pengaruh Cd terhadap Kadar Klorofil Tumbuhan Jewawut aksesori Buru Merah

Pada penelitian ini, perlakuan cekaman kadmium (Cd) pada media pertumbuhan berpengaruh terhadap kadar klorofil tumbuhan jiwawut (P value < 0,05) melalui hasil uji ANOVA *one way*. Kadar klorofil total di setiap perlakuan yang diberikan berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol (Tabel 4.2). Kadar klorofil terendah ditunjukkan pada perlakuan dengan konsentrasi Cd 1,0 μM dan 1,5 μM , yaitu sebesar 0,16 mg/g. Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa tidak ada beda nyata antara perlakuan Cd 1,0 μM dan 1,5 μM terhadap kadar klorofil total tumbuhan Jewawut aksesori Buru Merah. Meski demikian secara keseluruhan, cekaman Cd pada

media pertumbuhan mampu menurunkan kadar klorofil pada tumbuhan Jewawut aksesori Buru Merah, yakni penurunan sebesar 30,4% pada konsentrasi 0,5 μM , 60,5% pada konsentrasi 1,0 μM dan 61,4% pada konsentrasi 1,5 μM (Tabel 4.2). Data penurunan kadar klorofil ini juga selaras dengan hasil pengamatan morfologi daun tanaman yang menunjukkan gejala klorosis (kuning) dibandingkan dengan tanaman kontrol yang berwarna hijau (Gambar 4.8 dan Lampiran 2). Penurunan kadar klorofil tersebut juga serupa dengan penelitian pada tanaman lainnya seperti *Pisum sativum* yang mengalami penurunan sebesar 31,65% pada Cd 6 mM (Januskaitiene, 2012), sebesar 37,32% pada tanaman jagung (*Zea mays*) dalam 20 μM Cd (Wang dkk., 2009), dan sebesar 62,65% pada *Phragmites australis* dalam 100 μM Cd (Pietrini dkk., 2003).

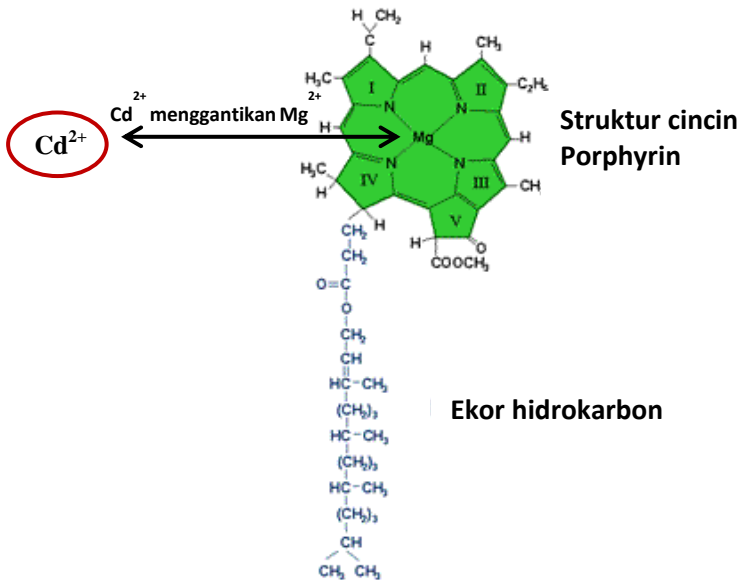
Tabel 4.2 Rata-rata Kadar Klorofil Tumbuhan Jerawat terhadap Cekaman Cd

Cd conc	Chlorophyll a (mg/g)	Chlorophyll b (mg/g)	Total Chlorophyll (mg/g)	Decrease (%)
Control	0,30±0,004 ^c	0,10±0,001 ^c	0,40±0,002 ^c	-
0,5 µM	0,21±0,003 ^b	0,06±0,002 ^b	0,28±0,001 ^b	30,40
1,0 µM	0,12±0,002 ^a	0,04±0,001 ^a	0,16±0,001 ^a	60,48
1,5 µM	0,12±0,002 ^a	0,04±0,002 ^a	0,16±0,002 ^a	61,41

Hasilnya dinyatakan sebagai mean ± SD. Huruf yang berbeda dalam satu baris menunjukkan perbedaan yang signifikan antara perlakuan pada $P < 0,05$

Penurunan rata-rata kadar klorofil berbanding lurus dengan biomassa tumbuhan yang berkaitan dengan proses fotosintesis (Tabel 4.2). Paparan logam berat Cd dilaporkan juga dapat Gangguan yang disebabkan oleh Cd pada proses fotosintesis mengakibatkan abnormalitas struktur kloroplas. Perubahan struktur kloroplas pada sel tanaman yang tercekam Cd disebabkan oleh penggembungan struktur tilakoid (Baryla dkk., 2001, Najeeb dkk., 2011). Selain itu penurunan jumlah kloroplas, penumpukan grana, penurunan kadar *Starch Grain* (SG) dan akumulasi *Postaglobuli* (PG) juga terjadi pada beberapa tanaman lain seperti *Pircis divarticata* (75 μM Cd, 14 HSP) (Ying dkk., 2010), *Hordeum vulgare* (5 μM , 15 HSP) (Wang dkk., 2011) dan *Brassica* (Elhiti dkk., 2012). Namun demikian, Parmar dkk (2013) menyatakan bahwa hal tersebut bersifat *species-dependent* dan bergantung pada faktor usia tanaman. Remans dkk (2010) juga menjelaskan bahwa abnormalitas struktur kloroplas ini dapat disebabkan karena peroksidasi asam lemak dan lipid sebagai akibat meningkatnya stres oksidatif.

Kadmium juga mampu mengakibatkan perubahan pigmen klorofil, yakni Cd akan mensubstitusi ion Mg^{2+} pada protoporphyrinogen (Gambar 4.9). Hal ini mengakibatkan klorofil menjadi tidak fungsional (Cd-Chl) (Parmar dkk., 2013). Molekul Cd-Chl yang terbentuk ini bersifat sangat tidak stabil dan akan rusak (*bleach*) sesaat setelah terbentuk, sehingga kadar klorofil mengalami penurunan disbanding pada kondisi normal (Kupper dkk., 2007, Gillet dkk., 2006). Penurunan kadar klorofil juga dapat terjadi karena Cd menghambat kerja enzim δ -aminolevulinic acid dehidratase (ALAD) yang memiliki peranan penting dalam biosintesis klorofil (Sarangthem dkk., 2011, Rout dan Sahoo, 2015). Sehingga selain karena abnormalitas molekul klorofil itu sendiri (Cd-Chl), biosintesis klorofil pun juga terhambat oleh aktivitas Cd.



Gambar 4.9. Substitusi Mg oleh Cd pada Klorofil
(Parmar dkk., 2013)

4.2.2 Pengaruh Cd terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Tumbuhan Jewawut aksesi Buru Merah

Malondialdehyde (MDA) merupakan hasil interaksi antara ROS dengan asam lemak tak jenuh (*polyunsaturated fatty-acid*/PUFA) yang menjadi penyusun membran sel. Senyawa ini merupakan produk akhir yang stabil dari proses peroksidasi lipid yang dapat dijadikan sebagai parameter pengukuran tidak langsung dari kumulatif peroksidasi lipid (Mao dkk, 2019). MDA dapat merefleksikan status kerusakan membran sel yang mengalami peroksidasi lipid (Zhou dkk., 2017). Kemampuannya berinteraksi dengan *deoxyadenosine* dan *deoxyguanine* dalam DNA menyebabkan MDA menjadi salah satu senyawa mutagenik yang mampu mempengaruhi kerusakan struktur asam nukleat (Marnett, 1999).

Logam berat umumnya menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid dalam sel. Peroksidasi lipid dapat mengganggu fisiologi membran, menyebabkan gangguan pada aliran cairan dan permeabilitas, mengubah transport ion serta menghambat reaksi metabolisme (Grotto dkk., 2009). Beberapa penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa logam berat Cd mampu meningkatkan kadar MDA di dalam sel tanaman, seperti pada tanaman Jewawut kultivar Jingu-21 pada cekaman Cd 200 μM yang diberikan selama 48 jam mengalami peningkatan sebesar 275% (Tian dkk., 2017) dan peningkatan sebesar 300% pada tanaman kultivar Changnong pada cekaman Cd 500 μM yang diberikan selama 100 hari (Han dkk., 2018). Pada tanaman lainnya seperti *Oryza sativa* (Abedi dan Neejad, 2018), *Gossypium herbaceum* (Khan dkk., 2013), *Hibiscus cannabinus* (Li dkk., 2013), *Lactuca sativa* (Monterio dkk., 2011), *Festuca arundinacea* (Li dkk., 2020) dan *Triticum aestivum* (Yadav dan Singh., 2013) juga mengalami peningkatan kadar MDA (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Dinamika Produksi MDA pada Beberapa Tanaman Terpapar Logam Berat Cd

Organisme	Cd	Lama Perlakuan	Dinamika Produksi MDA	Referensi
<i>Setaria italica</i> Kv. Jingu21	200 μM	2 hari	+ 275%	(Tian dkk., 2017)
<i>Setaria italica</i> Kv. Changnong	500 μM	10 hari	+ 300%	(Han dkk., 2018)
<i>Oryza sativa</i>	55 μM	18 hari	+ 89,8%	(Abedi dan Nejad, 2018)
<i>Gossypium herbaceum</i> Kv. ZMS49	500 μM	1 hari	+ 65%	(Khan dkk., 2013)
<i>Hibiscus canabicus</i> Kv. Fuhong991	80 μM	3 minggu	+ 83%	(Li dkk., 2013)
<i>Hibiscus canabicus</i> Kv. ZM412	120 μM	3 minggu	+ 120%	(Li dkk., 2013)
<i>Lactuca sativa</i> Kv. Rein deMai	50 μM	4 minggu	+ 134,48%	(Monteiro dkk., 2012)
<i>Festuca arundinacea</i> Kv. Houndog 5	30 ppm	7 hari	+ 166%	(Li dkk., 2020)
<i>Triticum aestivum</i> Kv. HW2004	7 ppm	2 hari	+ 34,38%	(Yadav dan Singh, 2013)

4.3 Respon Molekular

Salah satu bentuk adaptasi molekuler tanaman dalam menanggapi cekaman lingkungan adalah regulasi ekspresi gen-gen yang responsif terhadap jenis cekaman yang diberikan tersebut (Kuang dkk., 2018). Analisis ekspresi gen ini dapat dilakukan pada tingkatan transkriptomik (hasil transkripsi) maupun proteomik (protein) (Haider dan Pal, 2013). Beberapa gen yang terlibat dalam mekanisme regulasi tanaman terhadap cekaman logam berat Cd antara lain gen yang mengkode beberapa protein yang terlibat dalam proses *metal uptake* (*NRAMP1* dan *NRAMP6*) dan *metal homeostasis* (*MTP1*, *MTP12*, *CAX2*, *HMA2*, *HMA3*, *HMA4*, *IRT1*, *IRT2* dan *ZIP4*) pada tanaman Jewawut.

Keakuratan analisis transkriptomik sangat dipengaruhi oleh stabilitas gen referensi yang digunakan (Schmidt dan Delaney, 2010). Gen referensi merupakan gen yang menjadi kontrol dalam reaksi sebab akan selalu diekspresikan oleh tubuh (Kumar dkk., 2013). Pemilihan gen referensi yang tepat sangatlah penting dalam analisis ini, sebab gen referensi inilah yang nantinya menentukan interpretasi hasil (Sinha dkk., 2015). Terdapat beberapa gen referensi yang umumnya digunakan pada tanaman jewawut di bawah kondisi cekaman abiotik seperti *ACTIN*, *α -tubulin*, *β -tubulin*, *18s RNA*, *EF-1 α* , *RNA POL II*, *APRT* dan *TLF* (Kumar dkk., 2013). Faktor lain yang berpengaruh dalam reaksi qRT-PCR adalah konsentrasi dan kemurnian RNA. Selain itu proses ekstraksi dan preservasi RNA juga berperan penting, sebab RNA cenderung kurang stabil dan mudah terdegradasi oleh nuklease (Kuang dkk., 2018). Konsentrasi RNA yang digunakan dalam reaksi harus seragam sehingga aktivitas enzim *reverse transcriptase* pada reaksi akan sama rata dan tidak mempengaruhi perbandingan konsentrasi cDNA yang didapatkan (Hugget dkk., 2005).

Tabel 4.4 Famili Gen Responsif terhadap Cekaman Cd

Nama Gen	Lokasi Seluler	Peranan	Referensi
<i>NRAMP</i> (Natural-Resistance Associated Macrophage Protein)	Membran plasma	Transporter logam berat	(Ismael dkk., 2018)
<i>MTP</i> (Metal Tolerance Protein)	Membran plasma, tonoplas	Transporter (CDF) logam berat, serta memberi toleransi logam berat pada tanaman	(Ram dkk., 2019 dan Yu dkk., 2017)
<i>HMA</i> (Heavy Metal ATPase)	Aparatus Golgi, Kloroplas, Membran plasma, tonoplas	Transporter (ATPase) dan detok-sifikasi Cd (transport transmembran logam berat)	(Zhou dkk., 2019, Yu dkk., 2017 dan Rao dkk., 2006)
<i>ZIP</i> (Zinc/Iron Permease)	Membran plasma	Transporter logam (Zn/Fe) berat dari ruang ekstraseluler dan/atau dari lumen organel	(Singh dkk., 2016 dan Ismael dkk., 2018)
<i>CAX</i> (Cation/H ⁺ Antiporter Exchanger)	Tonoplas	Transporter (kation/ H ⁺) antiport Cd menuju vakuola	(Ismael dkk., 2018)
<i>MRP</i> (Multidrug Resistance-associated Protein)	Membran plasma dan tonoplas	Transporter (ABC) untuk akumulasi dan detoksifikasi Cd	(Wojas dkk., 2009 dan Rao dkk., 2006)

Lanjutan Tabel 4.4

<i>PCS</i> (Phytochelatin Synthetase)	Sitoplasma	Detoksifikasi logam berat dengan mengkhelat ke bentuk yang kompleks di vakuola, membantu sintesis fitokhelatin	(Singh dkk., 2016)
<i>MT</i> (Metallothionein)	Sitoplasma	Protein yang mengikat logam berat	(Rao dkk., 2006)
<i>MTF</i> (Metal-related Transcription Factors)	Nukleus	Factor transkripsi yang mengontrol ekspresi metallothionein	(Rao dkk., 2006)

Beberapa gen yang responsif terhadap logam berat di antaranya mengkode protein yang berperan sebagai faktor transkripsi (TF), zat pengkelat, protein pembentuk enzim (fungsional) yang memiliki peran dalam biosintesis antioksidan serta mengkode transporter bagi logam berat yang spesifik (Rao dkk., 2006). Pada penelitian ini data dinamika ekspresi gen responsif terhadap cekaman logam berat Cd pada tanaman jiwawut yang disajikan berupa gen yang berperan dalam pembentukan protein transporter logam berat pada membran dan material subselular lainnya. Kadmium diangkut melintasi membran plasma dan tonoplas oleh beragam famili transporter influks dan efluks serta kanal kation (*cation channel*) dalam sel-sel akar. Beberapa macam famili transporter yang mampu dilalui oleh Cd adalah Transporter Zinc (ZIP), Transporter Fe (IRT), ATPase logam berat (HMA), Penukar Kation/proton Vakuolar (CAX), dan *Metal Tolerance Protein* (MTP) (Yu dkk., 2017).

Pada penelitian sebelumnya transporter logam Zn (ZIP)–dilaporkan memiliki peranan dalam mekanisme absorbsi Cd memasuki sel epidermis akar (Ismael dkk., 2018). Tanaman *Arabidopsis thaliana* mutan-overekspresi gen ini menunjukkan akumulasi Cd yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman *wild-type* (Carrio-Segui dkk., 2015). Ekspresi gen ZIP pada tanaman Padi juga dilaporkan mengalami peningkatan pada keadaan tercekam logam berat Cd (Takahashi dkk., 2012). Transporter lainnya, IRT yang dioverekspresi pada tanaman *Arabidopsis* juga meningkatkan akumulasi Cd (Vert dkk., 2002). Selain itu, transporter ATPase logam berat (HMA) telah di-identifikasi bertanggung jawab dalam efluks Cd dari sel parenkim perisikel ke xilem (Mills dkk., 2005). Penelitian pada tanaman Padi yang memiliki transporter HMA mengakumulasi Cd lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol (Ishimaru dkk., 2012). Penukar Kation/proton (CAX) merupakan transporter Cd yang berada pada membran vakuola atau tonoplas yang memiliki fungsi dalam sekuestrasi Cd pada vakuola dalam

bentuk kompleks khelat-Cd (Ismael dkk., 2018), CAX bekerja mengalirkan logam berat berlawanan arah dengan aliran dari proton H^+ (Yang dan Chu, 2011). Overekspresi *AtCAX* pada tanaman Arabidopsis terkonfirmasi meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman logam berat (Koren'kov dkk., 2007), dalam penelitian Yu dkk (2017) juga menyatakan bahwa tanaman Arabidopsis kultivar Baiyewuyueman lebih toleran terhadap Cd dibandingkan dengan kultivar Kuishan'aijiaohaiye dikarenakan ekspresi CAX yang lebih tinggi. Transporter MTP merupakan transporter jenis CDF (*Cation Difusion Facilitator*), yang bekerja mengalirkan kation logam berat sesuai dengan gradient konsentrasi, umumnya terletak di membran plasma untuk mengatur efluks Cd dari sel satu ke sel lainnya dan pada vakuola untuk sekuestrasi Cd (Yang dan Chu, 2011). Gen pengkode transporter NRAMP juga merupakan transporter dari logam berat, yakni Fe (Ismael dkk., 2018). Penelitian Thomine (2003) pada tanaman mutan Arabidopsis yang memiliki overekspresi *NRAMP* menunjukkan hipersensitivitas terhadap logam berat Cd. Hal tersebut menunjukkan bahwa *NRAMP* berperan dalam sensitivitas tanaman terhadap cekaman logam berat Cd pada lingkungan. Transporter NRAMP bekerja dalam mengatur influks dan efluks Cd di dalam sel serta mengatur sekuestrasinya di dalam vakuola (Ferro dkk., 2002). Transporter ini tersebar di banyak bagian subselular seperti membran plasma, tonoplas, membran mitokondria dan plastida melalui penelitian Thomine (2003) yang mendeteksi ekspresi transien dari fusi-protein NRAMP pada Arabidopsis dengan GFP (*Green Fluorescence Protein*).

Penelitian yang dilakukan oleh Tian dkk (2017) pada tanaman jawawut yang diberikan perlakuan cekaman logam berat Cd sebesar 200 μ M selama 48 jam menghasilkan data dinamika ekspresi dari beberapa gen yang berperan sebagai transporter logam berat. Transporter yang diteliti dinamika ekspresi gennya di antaranya kelompok transporter logam berat NRAMP (*Natural Resistance-Associated Macrophage Protein*), kelompok transporter MTP (*Metal Tolerance*

Protein), kelompok transporter penukar kation (CAX), kelompok transporter ion Zn (ZIP) dan kelompok ATPase logam berat (HMA).

Transporter golongan *NRAMP* memiliki selektivitas yang tinggi terhadap ion divalent (Rao dkk., 2006). Transporter ini berperan dalam homeostasis logam berat pada beberapa kelas makhluk hidup, di antaranya menjaga homeostasis logam berat di sel-sel makrofag animalia sehingga memiliki nama sedemikian rupa. Transporter ini dapat bekerja secara antiport maupun simport sesuai dengan kebutuhan homeostasis sel, yang mana material yang diangkutnya berupa ion logam berat dan ion H^+ (Nevo dan Nelson, 2006). Gen *NRAMP* yang diteliti adalah *SiNRAMP1* (XM_004959079.3) dan *SiNRAMP6* (XM_004962946.2), yang mana keduanya menunjukkan peningkatan ekspresi (Tabel 4.5) pada perlakuan cekaman Cd 200 μM dalam penelitian Tian dkk (2017). Kedua transporter ini memiliki daerah lokalisasi yang berbeda, yakni pada membran plasma serta tonoplas vakuola (Rao dkk., 2006). Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh penelitian Han dkk (2018) yang mana terjadi peningkatan ekspresi gen *SiNRAMP1* dan *SiNRAMP6* pada taraf perlakuan Cd 250 μM , namun pada taraf cekaman Cd 500 μM ekspresi gen *SiNRAMP6* menunjukkan penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan pada taraf 500 μM gen *SiNRAMP1* menunjukkan peningkatan ekspresi yang lebih tinggi dibandingkan taraf Cd 250 μM . Berdasarkan hasil penelitian Han dkk (2018) dan Tian dkk (2017) pada gen *SiNRAMP1* dan *SiNRAMP6* dapat diketahui bahwa gen *SiNRAMP1* yang mengatur transpor ion Cd melintasi membran plasma akan meningkat ekspresinya seiring dengan penambahan taraf konsentrasi Cd yang diberikan pada lingkungan. Namun ekspresi dari gen *SiNRAMP6* yang mengatur influks logam berat Cd ke dalam vakuola menunjukkan peningkatan pada perlakuan pemberian cekaman Cd, namun pada batas taraf tertentu ekspresinya akan menurun secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa

konsentrasi Cd 500 μM pada lingkungan melebihi ambang batas toleransi tanaman jiwawut dalam melakukan sekuestrasasi Cd ke dalam vakuola. Hal ini sesuai dengan data kadar phytochelatine (PC) yang merupakan zat pengkhelat logam berat pada penelitian Han dkk (2018) yang menunjukkan peningkatan kadar pada tanaman jiwawut pada cekaman Cd 250 μM sedangkan pada cekaman Cd 500 μM terjadi penurunan yang signifikan seperti data ekspresi genetik gen *SiNRAMP6*. Pada kondisi yang sama menjelaskan bahwa aktivitas PC untuk mengikat dan mengakumulasi Cd di dalam vakuola (Yang dan Chu, 2011) menurun pada konsentrasi Cd yang terlalu tinggi.

Kelompok gen *MTP* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *SiMTP1* (XM_00490324.4) dan *SiMTP12* (XM_004984345.3), keduanya juga menunjukkan kenaikan ekspresi (Tabel 4.5) pada perlakuan cekaman Cd sama seperti transporter NRAMP. Transporter ini merupakan pompa efluks logam berat divalen (Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} dan Hg^{2+}) yang berada pada membran plasma dan tonoplas, fungsinya mengeluarkan ion logam berat dari dalam sel (efluks) serta sekuestrasasi pada vakuola. Proses transportnya adalah dengan memindahkan ion divalen logam berat ke luar sel, sedang proton (H^+ dan K^+) akan masuk ke dalam sel, sehingga memainkan peran sebagai antiporter untuk menjaga keseimbangan konsentrasi sel dengan lingkungannya (Guffanti dkk., 2002). Kenaikan ekspresinya menunjukkan semakin banyak logam berat yang membutuhkan bantuan transporter ini untuk dikeluarkan dari intrasel ataupun disekuestrasikan di vakuola pada keadaan tercekam logam berat.

Gen dari kelompok transporter penukar kation (*CAX*) pada tanaman jiwawut yang digunakan dalam penelitian Tian dkk (2017) adalah *SiCAX2* (XM_004984044.4), gen ini menunjukkan kenaikan ekspresi pada keadaan tanaman jiwawut tercekam logam berat. Transporter ini bekerja sebagai antiporter ion logam Cd dan H^+ . Fungsi utamanya adalah pada proses sekuestrasasi Cd pada vakuola dalam bentuk

kompleks khelat-Cd (Ismael dkk., 2018) sama seperti *SiNRAMP6* dan *SiMTP12*.

Kelompok gen transporter ion logam berat Zn (*ZRT/zinc regulated transporter*) dan Fe (*IRT/iron regulated transporter*) masuk ke dalam satu kelompok transporter yang sama, yakni famili transporter ZIP (*Zinc/Iron-related Protein*). Penelitian yang dilakukan pada gen *SiZIP4* (XM_004970801.2) (Tian dkk., 2017), *SiIRT1* (XM_004975817.2) dan *SiIRT2* (XM_004986275.3) menunjukkan peningkatan ekspresi pada perlakuan cekaman logam berat Cd. Kedua transporter ini terlokalisasi di bagian membran plasma untuk mengalirkan ion logam Fe, Zn, Mn dan Cd ke dalam sitoplasma (Rao dkk., 2006). Kedua transporter ini bekerja secara simport, yang mana mekanisme influks logam berat diikuti dengan masuknya HCO_3^- untuk menyeimbangkan tekanan osmotik sel dengan lingkungannya (Gonzales-Guererro dkk., 2016).

Pompa ATPase logam berat (HMA) merupakan ATPase yang berfungsi mengalirkan kation logam berat melintasi membran plasma dengan memanfaatkan energi bebas yang diperoleh dari hidrolisis ATP (Zhiguo dkk., 2018). Ekspresi gen *SiHMA2* (XM_004966055.2), *SiHMA3* (XM_012843843.2) (Han dkk., 2018) serta *SiHMA4* (XM_004951511.4) (Tian dkk., 2017) mengalami peningkatan pada perlakuan cekaman Cd dibandingkan dengan kontrol. Transporter dari kelompok ATPase ini terlokalisasi di berbagai membrane penyusun material subseluler seperti membrane plasma, tonoplas, membrane klorofil serta apparatus golgi (Rao dkk., 2006). Penelitian sebelumnya oleh Miyadate dkk (2011) menunjukkan bahwa *OsHMA3* yang diekstrak dari tanaman padi memiliki lokalisasi yang tinggi pada tonoplas dan berperan dalam proses sekuestrasi logam berat. Satoh-Nagasawa dkk (2012) menyebutkan bahwa *OsHMA2* memiliki peran dalam pengangkutan logam berat Cd pada pembuluh xilem. Pada tanaman gandum, *TaHMA2* berperan dalam translokasi logam Zn/Cd dari akar ke tajuk (Tan dkk., 2013).

Hampir semua gen-gen pengkode protein transporter logam berat dalam penelitian Tian dkk (2017) dan Han dkk (2018) menunjukkan peningkatan ekspresi pada tanaman jiwawut ketika tercekam Cd dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan ekspresi *CAX2*, *NRAMP6* dan *MTP1* menunjukkan bahwa Cd dari lingkungan tidak hanya mampu masuk ke dalam sel dan menyebabkan toksisitas, namun juga disekuestrasikan oleh tanaman di dalam vakuola. Peningkatan ekspresi pada gen *HMA2*, *HMA3* dan *MTP12* yang memiliki lokalisasi di berbagai bagian subseluler tidak menunjukkan spesifikasi proses pengolahan Cd di dalam sel. Penelitian menggunakan metode qRT-PCR hanya menunjukkan tingkat peurunan atau peningkatan ekspresi gen, namun tidak lokalisasi dari ekspresi gen tersebut (Kuang dkk., 2018) oleh karena itu peningkatan gen yang spesifik terlokalisasi di salah satu bagian subseluler saja seperti *CAX2* menunjukkan bagaimana tumbuhan melakukan homeostasis terhadap cekaman logam berat Cd (Tian dkk., 2017).

Tabel 4.5 Ekspresi Gen Responsif Cd (Transporter) pada Tanaman Jewawut

Nama Gen	Nomor Aksesii GeneBank	Lokalisasi Protein Subselular (Transporter)	Ekspresi	Referensi
<i>IRT1</i>	XM_004975817.2 (Lampiran 10)	P	↑	(Han dkk., 2018)
<i>IRT2</i>	XM_004986275.3 (Lampiran 11)	P	↑	(Han dkk., 2018)
<i>HMA2</i>	XM_004966055.2 (Lampiran 12)	V, P, Ch, G	↑	(Han dkk., 2018)
<i>HMA3</i>	XM_004951511.4 (Lampiran 13)	V, P, Ch, G	↑	(Han dkk., 2018)
<i>NRAMP1</i>	XM_004959079.3 (Lampiran 4)	P	↑	(Han dkk., 2018)
<i>NRAMP1</i>	XM_004959079.3 (Lampiran 4)	P	↑	(Tian dkk., 2017)
<i>NRAMP6</i>	XM_004962946.2 (Lampiran 5)	V	↑	(Tian dkk., 2017)
<i>NRAMP6</i>	XM_004962946.2 (Lampiran 5)	V	↓	(Han dkk., 2018)
<i>MTP1</i>	XM_00490324.4 (Lampiran 6)	V	↑	(Tian dkk., 2017)
<i>MTP12</i>	XM_004984345.3 (Lampiran 7)	V, P	↑	(Tian dkk., 2017)
<i>HMA4</i>	XM_012843843.2 (Lampiran 14)	V, P, Ch, G	↑	(Tian dkk., 2017)
<i>ZIP4</i>	XM_004970801.2 (Lampiran 9)	P	↑	(Tian dkk., 2017)
<i>CAX2</i>	XM_004984044.4 (Lampiran 8)	V	↑	(Tian dkk., 2017)

* P (membran plasma), V (vakuola), Ch (kloroplas), G (apparatus golgi)

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Cekaman logam berat Cd pada Tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah yang dikultur secara hidroponik mampu menurunkan parameter tinggi tajuk, panjang akar, jumlah daun, jumlah tunas, biomassa malai serta kadar klorofil secara signifikan pada taraf konsentrasi terendah (0,5 μM).
2. Berdasarkan studi literatur pemberian cekaman logam berat Cd pada tumbuhan mampu meningkatkan kadar MDA pada tanaman, selain itu gen transporter logam berat pada sel akar tumbuhan Jewawut (*SiNRAMP1*, *SiNRAMP6*, *SiMTP1*, *SiMTP12*, *SiCAX2*, *SiZIP4*, *SiIRT1*, *SiIRT2*, *SiHMA2*, *SiHMA3* dan *SiHMA4*) mengalami peningkatan ekspresi pada kondisi tercekam Cd meski tanaman menunjukkan gejala defisiensi ion logam esensial lainnya, namun ekspresi gen *SiNRAMP6* menurun pada taraf konsentrasi cekaman yang terlalu tinggi (500 μM).

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kadar MDA (*malondialdehyde*) dan respon molekular berupa ekspresi gen responsif terhadap logam berat Cd
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan logam berat Cd pada masing-masing bagian (organ) dari tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah agar diketahui jumlah Cd yang dapat diserap oleh spesies ini
3. Perlu dilakukannya penelitian lanjutan tumbuhan Jewawut aks. Buru Merah dengan paparan logam berat lain sehingga informasi tentang ketahanan spesies ini lebih mudah diketahui.

DAFTAR PUSTAKA

Abedi, E dan Nejad, R. A. K. (2018), “Cadmium Stress in Rice Plants: The Effects of Cadmium on Some Chemical Parameters in Rice (*Oryza sativa* L.)”, Journal of Plant Biochemistry and Physiology, Vol. 6, DOI: 10,4172/2329-9029-C1-003.

Abozeid, A., Ying, Z., Lin, Y., Liu, J., Zhang, Z. dan Tang, Z. (2017), “Ethylene Improves Root System Development under Cadmium Stress by Modulating Superoxide Anion Concentration in *Arabidopsis thaliana*”, Frontier Plants Science. Vol. 24, No. (8), hal. 253 – 260, DOI: 10,3389/fpls.2017.00253.

Moharil, M. P., Ingle, K. P., Jhadav, P. V., Gawai, D. C., Khelurkar, V. C dan Suprasanna, P. (2019), “Advances in Plants Breeding Strategies: Cereals”, Switzerland, Springer, Cham.

Alves, A. N., de Souza, F. G., Chaves, L. H. G., de Sousa, J A dan de Vasconcelos, A. C. F. (2019), “Effects of Nutrient omission in The Development of Sunflower BRS-122 in Greenhouse Condition”, Revista Facultad Nacional de Agronomia Medellin, Vol. 72, No. 1, hal. 8663 – 8671.

Anggito, A dan Setiawan, J. (2018), “Metode Penelitian Kualitatif”, Sukabumi, CV Jejak.

Ayala, A., Munoz, M. F. dan Arguelles, S. (2014), “Lipid Peroxidation: Production, Metabolism and Sgnaling Mechanism of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal”, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, DOI: 10,1155/2014/360438, hal. 1 – 31.

Baryla, A., Carrier, P., Franck, F., Coloumb, C., Sahut, C dan Havaux, M. (2001), “Leaf Chlorosis in Oilseed Rape Plants (*Brassica napus*) Grown on Cadmium-Polluted Soil: Causes and Consequences for Photosynthesis and Growth”, *Planta*, Vol. 212, hal. 696 – 709.

Benavides, M. P., Gallego, M. G. dan Tomaro, M. M. (2005), “Cadmium Toxicity in Plants”, *Journal Plant Physiolog*, Vol. 17, No. 1, hal. 21 – 34.

Bruno, L., Panceza, M., Forgione, I., Lamerton, L. R., Greco, M., Chiappetta, A. dan Bitonti, M. B. (2017), “In *Arabidopsis thaliana* Cadmium Impact on the Growth of Primary Root by Altering SCR Expression and Auxin-Cytokinin Cross-Talk”, *Frontier Plants Scienc.*, Vol. 8, No. 1323, hal. 1 – 13, DOI: 10,3389/FPLS.2017.01323.

Caetano, S. M., Menezes, R., Amaral, C., Rodrigues-Pousada, C dan Pimntel, C. (2015), “Repression of The Low Affinity Iron Transporter Gene *FET4*: A Novel Mechanism Against Cadmium Toxicity Orchestrated By Yapi Via Roxi”, *Journal Biological Chemistry*, Vol. 290, hal. 18584 – 18595.

Carrio-Segui, A., Garcia-Molina, A., Sanz, A dan Penarrubia, L. (2015.), “Defective Copper Transport in the *cop15* Mutant Affects Cadmium Tolerance”, *Plant and Cell Physiology*, Vol. 56, No. 3, hal. 442 – 454.

Cui, W., Fang, P., Zhu, K., Mao, Y., Gao, C., Xie, Y., Wang, J. dan Shen, W. (2014), “Hydrogen-rich Water Confers Plant Tolerance to Mercury Toxicity in Alfalfa Seedlings”, *Environmental Safety*, Vol. 105, hal. 105 – 111.

Dharma-wardana, M. W. C. (2018), "Fertilizer Usage and Cadmium in Soils, Crops and Food", *Environmental Geochemistry and Health*, Vol. 40, No. 1, DOI: 10.1007/s10653-018-0140-x.

Dobermann, A. dan Fairhurst, T. (2000), "Rice Nutrient Disorders and Nutrients Management", Potash and Phosphat Institute of Canada and International Rice Research Institute, Canada, Oxford Geographic Printers Pte Ltd.

Elhiti, M., Yang, C., Chan, A., Durnin, D. C., Belmonte, M., Ayele, B. T., Tahir, M dan Stasolle, C. (2012), "Altered Seed Oil and Glucosinolate Levels in Transgenic Plants Overexpressing the *Brassica napus* Shoot Meristem Less Gene", *Journal of Exploration Botany*, Vol. 63, hal. 4447 – 4461.

Farid, M, Shakoor, M. B., Ehsan, E., Ali, S., Zubair, M. dan Hanif, M. A. (2013), "Morphological, Physiological and Biochemical Responses in Different Plant Species to Cd Stress", *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, Vol. 3, hal. 53 – 60,

Farooq, M. A., Ali, S., Hameed, A., Bharwana, S. A., Rizwan, M., Ishaque, W., Farid, M., Mahmood, K. dan Iqbal, Z. (2016), "Cadmium Stress in Cotton Seedlings: Physiological and Oxidative Damages Alleviated by Glycinebetaine", *South African Journal of Botany*, Vol. 104, hal. 61 – 68.

Ferro, M., Salvi, D., RiviereRolland, D., dkk. (2002), "Integral Membrane Proteins of The Chloroplast Envelope: Identification and Subcellular Localization of New Transporters", *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol. 99, hal. 1187 – 1192.

Frasetya, B., Subandi, M., Ginandjar, S. dan Setiati, Y. (2019), “The Effect of Rice Husk Silicate extract on Plant Height, Electrical Conductivity and pH of Paddy Hydroponics”, IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, Vol. 334 (1), hal. 1 – 6.

Garibyan, L. dan Avashia, N. (2013) “Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction”, Journal of Investigation of Pharmacology, Vol. 133 (3), hal. 1 – 8.

Gill, S. S. dan Tuteja, N. (2011), “Cadmium Stress Tolerance in Crop Plants: Probing the Role of Sulfur”, Plant Signal Behavior, Vol. 6, No. 2, hal. 15 – 22.

Gillet, S., Decottignies, P., Chardonnet, S dan Le Marechal, P. (2006), “Cadmium Response and Redoxin Targets in *Chlamydomonas reinhardtii*: a Proteomic Approach”, Photosynthesis Research, Vol. 89, hal. 201 – 211.

Gonzales-Guererro, M., Escudero, V., Saez, A dan Tejada-Jimenez, M. (2016), “Transition Metal Transport in Plants and Associated Endosymbionts: Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Rhizobia”, Frontier in Plant Science, Vol. 7, No. 1088. DOI: 10.3389/fpls.2016.01088.

Grotto, D., Barcelos, G. R., Valentini, J., Antunes, L. M., Angeli, J. P dan Garcia, S. C. (2009), “Low Level of Methylmercury Induce DNA Damage in Rats: Protective Effects”, Arch Toxicol, Vol. 83, No. 3, hal. 287 – 291.

Guffanti, A. A., Wei, Y., Rood, S. V dan Krulwich., T. A. (2002), “An antiport Mechanism for a Member of The Cation Diffusion Facilitator Family: Divalent Cations Efflux in

Exchange for K^+ and H^+ ”, *Molecular Biology*, Vol. 45, No 1, hal. 145 – 153.

Gupta, Dharmendra K dan Francisco J. Corpas. (2013), “Heavy Metal Stress in Plants”, Heidelberg, Springer.

Haider, S and Pal, R. (2013), “Integrated Analysis of Transcriptomic and Proteomic Data”, *Journal of Current Genomics*, Vol. 14, No. 2, hal. 91 – 110,

Han, Y., Wu, M., Hao, L dan Yi, H. (2018), “Sulfur Dioxide Derivatives Alleviate Cadmium Toxicity by Enhancing Antioxidant Defence and Reducing Cd^{2+} Uptake and Translocate in Foxtail Millet Seedlings”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 157, hal. 207 – 215.

Hewajuli, D. A. dan Dharmayanti, N. L. P. I. (2014), “Perkembangan Teknologi *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* dalam Mengidentifikasi Genom Genom *Avian Influenza* dan *Newcastle Diseases*”, *Wartazoa*, Vol. 24, No. 1, hal. 16-30,

Hijrianti, S. dan Widodo, S. (2018), “Substitusi Tepung Jewawut pada Kue Kasipiq di Desa Bonde Kecamatan Campalagian Kabupaten Polewali Mandar”, *Prosiding Seminar Nasional 2018 Sinergisitas Multidisiplin Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*, Vol. 1, hal. 294 – 300,

Hossain, M. A., Piyatida, P., da Silva, J. A. T. dan Fujita, M. (2012), “Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation”, *Journal of Botany*, Vol. 2012, hal. 1 – 37. DOI: 10,1155/2012/872875.

Huang, X., Duan, S., Wu, Q., Yu, M dan Shabala, S. (2020), “Reducing Cadmium Accumulation in Plants: Structure-Function Relations and Tissue-Specific Operation of Transporter in The Spotlight”, *Plants*, Vol. 9, No. 223, hal. 1 – 18.

Hugget, J., Dheda, K., Bustin, S dan Zumla, A. (2005), “Real-Time RT-PCR Normalisation: Strategies and Consideration”, *Genes and Immunity*, Vol. 5, hal. 1 – 6.

Huybrencts, M., Cuypers, A., Deckers, J., Iven, V., Vandionant, S., Josefczack, M dan Hendrix, S. (2019), “Cadmium and Plant Development: An Agony from Seed to Seed”, *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 20, No. 3971, hal. 1 – 30,

Inanc, A. L. (2011), “Chlorophyll: Structural Properties, Health Benefits and Its Occurrence in Virgin Olive Oil”, *Akademic Food Journal*, Vol. 9, No. 2, hal. 26 – 32.

Ishimaru., Y., Tahakahashi, R., Bashir, K., Shimo, H., Senoura, T., Sugimoto, K., dkk. (2012), “Characterizing the Role of Rise OsNRAMP5 in Manganese, Iron and Cadmium Transport”, *Sci Rep*, Vol. 2, No. 286, DOI: 10.1038 /srep00286.

Ismael, M. A., Elyamine, A. M., Moussa, M. G., Cai, M., Zhao, X dan Hu, C. (2018), “Cadmium in Plants: Uptake, Toxicity, and Its Interaction with Selenium Fertilizer” *Metallomics: Royal Society of Chemistry*, DOI: 10.1039 /c8mt00247a.

Istarani, F. dan Pandebesie, E. S. (2014), “Studi dampak Arsen (As) dan Kadmium (Cd) terhadap Penurunan Kualitas

Lingkungan”, Jurnal Teknik POMITS, Vol. 3, No. 1, hal. D53 – D58.

Jadid, N., Maziyah, R., Nurcahyani, D. D dan Mubarokah, N. R. (2017), “Growth and Physiological Responses of Some *Capsicum frutescens* Varieties to Copper Stress”, Proceeding of International Biology Conference 2016, AIP Conf. Proc. 1854, 020018–1–020018–7, DOI: 10.1063/1.4985409.

James, O. A. H., Blust, R., Coen, W. D., Griffin, J. dan Jamers, A. (2013), “An Omics Based Assessment of Cadmium Toxicity in the Green Algae *Clamidomonas reinhardtii*”, Aquatic Toxicology, Vol. 126, hal. 335 – 364.

Januskaitene, I. (2012), “The Effect of Cadmium on Several Photosynthetic Parameters of Pea (*Pisum sativum* L.) at Two Growth Stages”, Journal of Agriculture, Vol. 99, hal. 71 – 76.

Jia, G., Huang, F., Zhi, H., Zhao, Y., Zhao, Q., Li, W., Chai, Y., Liu, K., Huang, T., Lu, H., Zhang, L., Zhu, C., Lu, T., Lu, Y., Feng, Q., Zhou, C., Hao, H., Fan, D., Liu, H., Yang, L., Weng, Q., Lu, P., Li, Y., Guo, E., Wang, S., Wang, S., Liu, J., Zhang, W., Zhang, B., Li, W., Wang, Y., Li, H., Zhao, B., Li, J., Zhang, N., Chen, G., Diao, X., Guo, Y. dan Han, B. (2013), “A Haplotype Map of Genomic Variation and Genome-wide Association Studies of Agronomic Traits ni Foxtail Millet (*Setaria italica*)”, Nature Genetics, Vol. 45, No. 8, hal. 957 – 963.

Jiang, X. J., Luo, Y. M., Liu, Q., Liu, S. L dan Zhao, Q. G. (2004), “Effects of Cadmium on Nutrient Uptake and Translocation”, Environmental Geochemistry and Health, Vol. 26, hal. 319 – 324.

Juhriah, S. S. (2017), “Respon Pertumbuhan Tanaman Jengger Ayam Merah *Celosia plumose* (Voss) Burv. pada Tanah Tercemar Logam Berat Kadmium (Cd)”, Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan, Vol. 8, No. 15, hal. 22 – 28.

Kalaji, H. M., Dabrowski, P., Cetner, M. D., Samborska, I. A., Lukasik, I., Brestic, M., Zivcak, M., Tomasz, H., Mojski, J., Kociel, H. dan Panchal, B. M. (2017), “A Comparison Between Different Chlorophyll Content Meters under Nutrient Deficiency Condition”, Journal of Plant Nutrition, Vol. 40, No. 7, hal. 1024 – 1034.

Kapusta, A., Kuczynska, B. dan Puppel, K.. (2018), “Relationship between the Degree of Antioxidant Protection and Level of Malondialdehyde in High-Performance Polish Holstein-Friesian Cows in Peak of Lactation”, PLoS ONE, Vol. 13, No. 3, hal. 1 – 13.

Kasmiyati, S., Santosa, Priymbada, I. D., Dewi, K., Sucahyo dan Sandradewi, R. (2016), “Growth Response of *Sorghum bicolor* Cultivars to Trivalent Chromium Stress”, Biosaintifika Journal of Biology and Biology Education, Vol. 8, No. 1, hal. 73 – 86.

Khan, M. D., Mai, L., Ali, B., Chen, Y., Cheng, X dan Zhu, S. J. (2013), “Cadmium-Induced Upregulation of Lipid Peroxidation and Reactive Oxygen Species Caused Physiological, Biochemical and Ultrastructural Changes in Upland Cotton Seedlings”, Biomed Research International, Vol. 2013, DOI: 10.1155/2013/374063.

Koren'kov, V., Park, S., Cheng, H. H., Sreevidya, C., Lachmansingh, J., Morris, J., dkk. (2007), ”Enhanced Cd²⁺-selective Root-Tonoplast-Transport in Tobaccos Expressing

Arabidopsis Cation Exchanger”, *Planta*, Vol. 225, No. 2, hal. 403 – 411.

Kratky, B. A. (2009), “Three Non-Circulating Hydroponics Methods for Growing Lettuce”, *Proceedings of the International Symposium on Soilless Culture and Hydroponics Acta. Hort*”, Vol. 843, hal. 65 – 72.

Krishiworld (2005), “Fields Crops of *Setaria italica* (L) Beauv””, *The Pulse of Indian Agriculture*, Vol. 2, No. 1, hal. 1 – 15.

Kuang, J., Yan, X., Genders, A. J., Granata, C dan Bishop, D. J. (2018), “An Overview of Technical Considerations when Using quantitative Real-Time PCR Analysis of Gene Expression in Human Exercise Research”, *PLoS ONE*, Vol.13, No. 5, hal. e0196438.

Kumar, K., Muthamilarasan, M. dan Prasad, M. (2013), “Reference Gene for Quantitative Real-Time PCR Analysis in the Model Plant Foxtail Millet (*Setaria italica* L.) Subjected to Abiotic Stress Conditions”, *Plant Cell Tiss Organ Cult*, DOI: 10.1007/s11240-013-0335-x.

Kupper, H., Kupper, F. dan Spiller, M. (1998) “*In Situ* Detection of Heavy Metal Substituted Chlorophylls in Water Plants”, *Photosynthesis Research*, Vol. 58, No. 2, hal. 123 – 133.

Kupper, H., Parameswaran, A., Leitenmaier, B., Trtilek, M dan Setlik, I. (2007), “Cadmium-Induced Inhibition in Photosynthesis and Long-term Acclimation to Cadmium Stress in the Hyperaccumulator *Thalpi caerulescens*”, *New Phytologist*, Vol. 175, hal. 655 – 674.

Leonard, W dan Martin, J. (1988), “Cereal Crops”, New York City, The Macmillan Corp.

Li, F., Qi, J., Zhang, G., Lin, L., Fang, P., Tao, A dan Xu, J. (2013), “Affects of Cadmium Stress on the Growth, Antioxidative Enzyme and Lipid Peroxidation in Two Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) Plant Seedlings”, Journal of Integrative Agriculture, Vol. 12, No. 4, hal. 610 – 620,

Li, H., Liu, X., Wassie, M dan Chen, L. (2020), Selenium Supplementation Alleviates Cadmium-Induced Damages in Tall Fescue through Modulating Antioxidant System, Photosynthesis Efficiency and Gene Expression”, Environmental Science and Pollution Research, Vol. 27, hal. 9490 – 9502.

Mahboudi, H., Negin, M. H., Rashidabadi, Z. I., Anbarestani, A. H., Karimi, S. dan Darestani, K. D. (2018), “Prospect and Competence of Quantitative Methods via Real-time PCR in a Comparative Manner: An Experimental Review of Current Methods”, The Open Bioinformatics Journal, Vol. 11, hal. 1 – 11.

Mao, C., Yuan, J. Q., Lv, Y. B., Gao, X., Yin, Z. X., Kraus, V. B., Chei, C. L., Matchar, D. B., Zeng, Y. dan Shi, X. M. (2019), “Association between Superoxide Dismutase, Malondialdehyde and All-Cause Mortality in Older Adults: A Community Based Cohort Study”, BMC Geriatrics, Vol. 19, No. 104, hal. 1 – 9.

Mapikasari, S., Adisyahputra, A. dan Indrayanti, R. (2017), “Perkecambahan 4 Aksesi Jewawut (*Setaria italica* (L.) P. Bauv) pada Kondisi Cekaman Kekeringan Artifisial”, Bioma, Vol. 13, No. 1, hal. 43 – 50,

Mills, R. F., Francini, A., Ferreirada Rocha, P. S., Baccarini, P. J., Aylett, M., Krijger, G. C. (2005), "The Plant P_{1B} -type ATPase AtHMA Transports Zn and Cd and Plays a Role in Detoxification or Transition Metal Supplied at Elevated Level", FEBS Lett, Vol. 579, No. 3, hal. 783 – 791.

Miyadate, H., Adachi, S., Hiraizumi, A., Tezuka, K., Nakazawa, N., Kawamoto, T., Katou, K., Kodama, I., Sakurai, K., Takahashi, H., Satoh-Nagasawa, N., Watanabe, A., Fujimura, T dan Akagi, H. (2011), "*OsHMA3*, a P_{1B} -type of ATPase Affects Root-to-Shoot Cadmium Translocation in Rice by Mediating Efflux into Vacuoles", New Phytol, Vol. 189, No. 1, hal. 190 – 199.

Mo, Y., Wan, R. dan Hang, Q. (2012), "Application of Reverse Transcription-PCR and Real Time-PCR in Nanotoxicity Research", Methods in Molecular Biology, Vol. 926, hal. 99 – 112.

Monterio, C., Santos, C., Pinho, S., Oliveira, H., Pedrosa, T dan Dias, M. C. (2012), "Cadmium-Induced Cyto- and Genotoxicity are Organ-Dependent in Lettuce", Chemical Research in Toxicology: American Chemical Society, Vol. 25, hal. 1423 – 1434, DOI: 10.1021/tx300039t.

Muhadjir, N. (1998), "Metodologi Penelitian Kualitatif", Yogyakarta, Rake.

Mullis, K. B. (1990), "The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction", Scientific American, Vol. 262, No. 4, hal. 56 – 61.

Muneer, S., Hakeem, K. R, Mohamed, R, Lee, J. H. (2014), "Cadmium Toxicity Induced Alterations in the Root Proteome of Green Gram in Contrasting Response Towards Iron

Supplement”, International Journal of Molecular Sciences, Vol. 15, No. 4, hal. 43 – 55.

Najeeb, U., Jilani, G., Ali, S., Sarwar, M., Xu, L dan Zhou, W. (2011), “Insight into Cadmium Induced Physiological and Ultrastructural Disorders in *Juncus effuses* L. and its Remediation through Exogenous Citric Acid”, Journal of Hazardous Materials, Vol. 186, hal. 565 – 574.

Nevo, Y dan Nelson, N. (2006), “The NRAMP Family of Metal-Ion Transporters”, Biochemica et Biophysica Acta, Vol. 1763, hal. 609 – 630,

Nugraha, R. U. dan Susila, A. D. (2015), “Sumber sebagai Pengganti Hara AB mix pada Budidaya Sayuran Daun secara Hidroponik”, Jurnal Hortikultura Indonesia, Vol. 6, No. 1, hal. 11 – 19.

Overvoorde, P., Fukaki, H dan Beeckman, T. (2010), “Auxin Control of Root Development”, Cold Spring Harbour Prespective in Biology, Vol. 2, No. a001537, hal. 1 – 16.

Pai, A. R. dan Nair, B. (2015), “Synthesis and Characterization of a Binary Oxide ZrO_2 -TiO and its Application in Chlorophyll dye-sensitized solar cell with reduced Graphene Oxide as Counter Electrodes”, Bulletin Material Science, Vol. 38, No. 5, hal. 1129 – 1133.

Pardo, S. B., Carpena, R. O. dan Zornoza P. (2013), “Cadmium in White Lupin Nodules: Impact on Nitrogen and Carbon Metabolism”, Journal of Plant Physiology, Vol. 170, No. 3, hal. 265 – 271.

Pareek, S., Sharma, S., Sagar, N. A. dan Yadav, V. (2017), "Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health", India, Willey-Blackwell, hal. 269 – 284.

Parmar, P., Kumari, N dan Sharma, V. (2013), "Structural and Functional Alterations in Photosynthetic Aparatus of Plants under Cadmium Stress", Botanical Studies, Vol. 54, No. 45, hal. 1 – 6.

Pietrini, F., Zacchini, M., Iori, V., Pietrosanti, L., Ferreti, M dan Massacci, A. (2010), "Spatial Distribution of Cadmium ini Leaves and on Photosynthesis: Examples of Different Strategies in Willow and Poplar Clones", Journal of Plant Biology, Vol. 12, hal. 335 – 363.

Prasad, M. (2017), "The Foxtail Millet Genome", New Delhi, Springer International Publishing.

Pratami, A. A. (2019). "Studi Keanekaragaman Genetik pada Beberapa Aksesori Jewawut (*Setaria italica* L.) Menggunakan Marka RAPD dan ISSR". Surabaya, Skripsi ITS.

Rahmadiani, W. D. D. dan Aunurohim. (2013), "Bioakumulasi Lofam Berat Kadmium (Cd) oleh *Chaetocheros calcitrans* pada Konsentrasi Sublethal", Jurnal Sains dan Seni POMITS, Vol. 2, No. 2, hal. e202 – e206.

Ram, H., Kaur, A., Gandass, N., Singh, S., Deshmukh, R., Sonah, H dan Sarma, T. R. (2019), "Molecular Characterization and Expression Dynamics of MTP Genes under Various Spatio-temporal Stages and Metal Stress Condition in Rice", PLoS ONE. Vol. 14, No. 5, hal. e0217360,

Rao, K. V. M., Raghavendra, A. S dan Redy, K. J. (2006), “Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants”, Netherland, Springer Pub.

Remans, T., Opdenakker, K., Smeets, K., Mathijsen, D., Vangronsveld, J dan Cuypers, A. (2010), “Metal-Specific and NADPH Oxidase Dependent Changes in Lipooxygenase and NADPH Oxidase Gene Expression in *Arabidopsis thaliana* Exposed to Cadmium or Excess Copper”, *Functional Plant Biology*, Vol. 37, hal. 532 – 544.

Ridwan, T. H. dan Witjaksono. (2018), “Respon Tanaman Jewawut [*Setaria italica* (L.) P. Bauv] terhadap Kondisi Cahaya Rendah”, *Jurnal Biologi Indonesia*, Vol. 14, No. 1, hal. 23 – 32.

Rosawanti, P., Ghulamahdi, M. dan Khumalda, N. (2015), “Respon Anatomi dan Fisiologi Akar Kedelai terhadap Cekaman Kekeringan”, *Jurnal Agronomi Indonesia*, Vol. 45, No. 3, hal. 180 – 192.

Rosidah, S., Anggraito, Y. U dan Pukan, K. K. (2014), “Uji Toleransi Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) terhadap Cekaman Kadmium (Cd), Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu) pada Kultur Cair”, *Jurnal MIPA*, Vol. 37, No. 1, hal. 7 – 15.

Rout, G. R dan Sahoo, S. (2015), “Role of Iron in Plant Growth and Metabolism”, *Reviews in Agricultural Sciences*, Vol. 3, hal. 1 – 24, DOI: 10.7831/ras.3.1.

Roy, S. K., Cho, S. W., Soo, J. K., Kamal, A. H. M., Kim, S. W., Oh, M. W., Lee, M. S., Chung, K. Y., Xin, Z. dan Woo, S. H. (2016), “Morpho-physiological and Proteome Level

Responses to Cadmium Stress in Sorghum”, Journal PLOS ONE e0150431, Vol. 11, No. 2, hal. 1 – 27.

Rumahlatu, D. (2011), “Konsentrasi Logam Berat Kadmium pada Air, Sedimen dan *Deadema setosum* (Echinodermata, Echinoidea) di Perairan Pulau Ambon”, Ilmu Kelautan, Vol. 16, No. 2, hal. 78 – 85.

Saeed, K. dan Saeed, N. A. (2013), “Real Time Polymerase Chain Reaction: Application in Diagnosis Microbiology”, International Journal of Medical Students, Vol. 1, No. 1, hal. 28 – 36.

Santos, C. F., Thiemy, V., Machado, M. A. A. M., Nicole, D. and Greene, A. S. (2004), “Reverse Transcription and Polymerase Chain Reaction: Principles and Application in Dentistry”, Journal Application Oral Science, Vol. 12, hal. 1 – 11.

Sarangthem, J., Jain, M dan Gadre, R. (2011), “Inhibition of δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase Activity by Cadmium in Excised Etiolated Maize Leaf Segments During Greening”, Plant Soil Environment, Vol. 57, No. 7, hal. 332 – 337.

Satoh-Nagasawa, N., Mori, M., Nakazawa, N., Kawamoto, T., Nagato, Y., Sakurai, K., Takahashi, H., Watanabe, A dan Akagi, H. (2012), “Mutations in Rice (*Oryza sativa*) Heavy Metal ATPase 2 (*OsHMA2*) Restrict the Translocation of Zinc and Cadmium”, Plant Cell and Physiology, Vol. 53, No. 1, hal. 213 – 224.

Schmidt, G. W and Delaney, S. K. (2010), “Stable Internal Reference Genes for Normalization of Real Time RT-PCR in Tobacco”, Molecular Genetics and Genomics, Vol. 283, No. 3, hal. 33 - 41.

Shanying, H., Xiaoe, Y., Zhenli, H. dan Baligar, V. C. (2017), “Morphological and Physiological Responses Plants to Cadmium Toxicity: A Review”, *PEDHOSPHERE*, Vol. 27 , No. 3, hal. 421 – 438.

Shavrukov, Y., Hayes, J. E. dan Genc, Y. (2012), “Hydroponics – Astandard Methodology for Plants Biological Researchs”, Kroasia, InTech Publication.

Simanjuntak, B.A dan Sosrodiharjo, S. (2014), “Metode Penelitian Sosial: Edisi Revisi”, Jakarta, Yayasan Pustaka Obor Indonesia.

Singh, S., Parihar, P., Singh, R., Singh, V. P dan Prasad, S. M. (2016), “Heavy Metal Tolerance in Plants: Role of Transcriptomics, Proteomics, Metabolomics and Ionomics”, *Frontiers in Plant Science*, Vol. 6, hal. 1143, DOI: 10.3389/fpls.2015.01143.

Sinha, P., Singh, V. K., Suryanarayana, V., Krishnamurty, L., Saxena, R. K dan Varshney, R. K. (2015), “Evaluation and Validation of Housekeeping Gene as Reference for Gene Expression Studies in Pigeonpea (*Cajanus cajan*) under Drough Stress Condition”, *PLoS ONE*, Vol. 10, No. 4, hal. e0122847.

Soeka, Y. S. dan Sulistiani. (2017), “Profil Vitamin, Kalsium, Asam Amino dan Asam Lemak Tepun Jewawut (*Setaria italica* L.) Fermentasi”, *Jurnal Biologi Indonesia*, Vol 13, No. 1, hal. 85 – 96.

Susana, R. dan Suswati, D. (2011), “Ketersediaan Cd, Gejala Toksisitas dan Pertumbuhan 3 Spesies *Brassicarceae* pada

Media Gambut yang Dikontaminasi Kadmium (Cd)", Jurnal Teknologi Perkebunan dan PSDL, Vol. 1, hal. 9 – 16.

Sutrisno dan Kuntiyastuti, H. (2015), "Pengelolaan Cemaran Cadmium pada Lahan Pertanian di Indonesia", Buletin Palawija, Vol.. 13, No. 1, hal. 83 – 91.

Taiz, L dan Zeiger, E. (2006), "Lecture Text Plant Physiology 4th Edition", USA, Sinauer Associates, Inc Publishers. Sunderland, MA.

Takahashi, R., Ishimaru, Y., Senoura, T., Shimo, H., Ishikawa, S., Arao, T., Nakahishi, H dan Nishizawa, N. K. (2012), "The OsNRAMP1 Iron Transporter is Involved in Cd Accumulation in Rice", Journal of Experimental Botany. Vol. 62, No. 14, hal. 4843 – 4850,

Tan, J. J., Wang, J. W., Chai, T. Y., Zhang, Y. X., Feng, S. S., Li, Y., Zhao, H. J., Liu, H. M dan Cai, X. P. (2013), "Functional Analyses of *TaHMA2*: a P_{1b}-type ATPase in Wheat", Plant Biotechnology Journal, Vol. 11, hal. 420 – 431.

Templeton, D. M. dan Liu, Y. (2010), "Multiple Role of Cadmium in Cell Death and Survival", Chemico-Biological, Vol. 118, No. 2, hal. 267 – 275.

Thomine, S., Lelièvre, F., Debarbieux, E., dkk. (2003), "AtNRAMP3, a Multispecific Vacuolar Metal Transporter Involved in Plant Responses to Iron Deficiency", Plant Journal, Vol. 34, hal. 685 – 695.

Thomine, S., Wang, R., Ward, J. M., Crawford, N. M dan Schroeder, J. I. (2000), "Cadmium and Iron Transport by Members of a Plant Metal Transporter Family in *Arabidopsis*

with Homology to *Nramp* Genes”, Proceedings of National Academy of Science of United States America, Vol. 97, No. 9, hal. 4991-4996.

Tian, B., Zhang, Y., Jin, Z., Liu, Z dan Pei, Y. (2017), “Role of Hydrogen Sulfide in the Methyl Jasmonate Response to Cadmium Stress in Foxtail Millet”, Frontier in Bioscience, Vol. 22, hal. 530 – 538.

Tiwari, S. dan Lata, C. (2018), “Heavy Metal Stress, Signaling and Tolerance Due to Plant–Associated Microbes: An Overview”, Frontiers in Plant Science, Vol. 9, No. 425, hal. 1 – 12.

Tupan, C. 1 dan Uneputty, P. A. (2017), “Concentration of Heavy Metal Lead (Pb) and Cadmium (Cd) in Water, Sediment and Seagrass *Thalassia hemprichii* in Ambon Island Water”, AACL Bioflux, Vol. 10, No. 6, hal. 1610 – 1617.

Vert, G., Grotz, N., Dedaldechamp, F., Gaymard, F., Guerinot, M. L., Briat, J-F. (2002), “IRT1, an Arabidopsis Transporter Essential for Iron Uptake from the Soil and for Plant Growth”, Plant Cell, Vol. 14, No. 6, hal. 1223 – 1233.

Wang, F., Chen, F., Cai, Y., Zhang, G dan Wu, F. (2011) “Modulation of Exogenous Glutathione in Ultrastructure and Photosynthetic Performance Against Cd Stress in the Two Barley Genotypes Differing in Cd Tolerance”, Biology Trace Elementary Research, Vol. 144, No. 1 – 3, hal. 1275 – 1288.

Wang, H., Zhao, S. C., Liu, R. C., Zhou, W dan Jin, J. Y. (2009), “Changes of Photosynthetic Activities of Maize (*Zea mays*) Seedlings in Response to Cadmium Stress”, Photosynthetica. Vol. 74, hal. 277 – 283.

Wei, S., Zhou, Q., Wang, X., Zhang, K., Guo, G dan Ma, L. Q. (2005), “A Newly-Discovered Cd-Hyperaccumulator Plant *Solatum nigrum* L”, Chinese Science Bulletin, Vol. 50, hal. 33 – 38.

Weng, Z. X., Wang, L. X., Tan, F. I., Huang, L., Xing, J. H., Chen, S. P., Cheng, C. L. dan Chen, W. (2013), “Proteomic and Physiological Analyses Reveal Detoxification and Antioxidation Induced by Cd Stress in *Kandelia candel* Roots”, Trees. Vol. 27, No. 3, hal. 83–95.

Wibowo, A. W., Suryanto, A. dan Nugroho, A. (2017), “Kajian Pemberian Berbagai Dosis Larutan Nutrisi dan Media Tanam secara Hidroponik Sistem Substrat pada Tanaman Kailan (*Brassica oleracea* L.)”, Jurnal Produksi Tanaman, Vol. 5, No. 7, hal. 1119 – 1125.

Wojas, S., Hennig, J., Plaza, S., Geisler, M., Siemianowski, O., Sklodowska, A., Ruszczynska, A., Bulska, E dan Antosiewicz. (2009), “Ectopic Expression of Arabidopsis ABC Transporter MRP7 Modifies Cadmium Root-to-Shoot Transport and Accumulation”, Environmental pollution, Vol. 157, hal. 2781 – 1789.

Xue, Z., Gao, H. Y. dan Zhang, L. (2013), “Effect of Cadmium on Growth, Photosynthetic Rate and Chlorophyll Content in Leaves of Soybean Seedlings”, *Biologia Plantarum*, Vol. 57, No. 3, hal. 587 – 590.

Yadav, K dan Singh, N. B. (2013), “Effects of Benzoic Acid and Cadmium Toxicity on Wheat Seedlings”, *Chilean Journal of Agricultural Research*, Vol. 73, No. 2, hal. 168 – 174.

Yang, Z dan Chu, C. (2011), “Towards Understanding Plant Response to Heavy Metal Stress”, Abiotic Stress in Plant – Mechanism and Adaptations, DOI: 10.5772/24204.

Ying, R. R., Qiu, R. L., Tang, Y. T., Hu, P. J., Qiu, H., Chen, H. R., Shi, T. H dan Morel J. L. (2010), “Cadmium Tolerance of Carbon Assimilation Enzymes and Chloroplast in Zn/Cd Hyperaccumulator *Piricis divaricate*”, Journal of Plant Physiology, Vol. 167, hal. 81 – 87.

Yu, R., Li, D., Du, X., Xia, S., Liu, C da Shi, G. (2017), “Comparative Transcriptome Analysis Reveals Key Cadmium Transport-related Genes in Roots of Two Pak Choi (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*) Cultivars”, BMC Genomics, Vol. 18, No. 587, hal. 1 – 14.

Yulita, K. S. dan Ridwan. (2018), “Molecular Characterization of Induced Mutation of Jewawut (*Setaria italica* ssp. *italica*) from Buru Island, Indonesia using SRAP”, Biodiversitas. Vol. 19, No. 3, hal. 1160 – 1168.

Zeng, X. W., Qiu, R. L., Ying, R. R., Tang, Y. T., Tang, L. dan Fang, X. H. (2011), “The Differentially – Expressed Proteome in Zn/Cd Hyperaccumulator *Arabis paniculata* Franch in Response to Zn and Cd”, Chemosphere, Vol. 82, No. 3, hal. 321 – 328.

Zhang, G., Liu, X., Quan, Z., Cheng, S., Xu, X., Pan, X., Zeng, P., Yue, Z., Wang, W., Tao, Y., Bian, C., Han, C., Xia, Q., Cao, R., Yang, X., Wang, J., Shi, Q., Zhan, D., Wang, C., Huang, P., Hu, J., Wang, R., Chen, Q., Guo, T., Zhang, Y., Li, Y., Cai, Y., Wang, J., Li, H., Xie, M., Peng, X., Li, H., Liu, C., Zhao, Z., Li, N., Xiang, H. dan Wang, J. (2012), “Genome Sequence of Foxtail Millet (*Setaria italica*) Provide Insights

into Grass EVolution and Biofuel Potential”, *Nature Biotechnology*, Vol. 30, No. 6, hal. 549 – 556.

Zhiguo, E., Tingting, L., Chen, C., Lei, W. (2018), “Genome-Wide Survey and Expression Analysis of P_{1B}-ATPases in Rice, Maize and Sorghum”, *Rice Science*, Vol. 25, No. 4, hal. 208 – 217.

Zhou, C., Busso, C. A, Yang, Y. G., Zhang, Z., Wang, Z. W., Hang, Y. F. dan Han, X. G. (2017), “Effect of Mixed Salt Stress on Malondialdehyde, Proteins and Antioxidant Enzymes of *Leymus chinensis* in Three Leaf Colors”, *PYTON International Journal of Experiment Botany*, Vol. 86, hal. 205 – 213.

Zhou, J. L., Du, B., Wei, Q., Wang, X. C., Nguyen, P. D., Ngo, H. H dan Guo, W. (2012), “Characterization of a Multi-Metal Binding Biosorbent: Chemical Modification and Desorption Studies”, *Biosource Technology*, Vol. 1993, hal. 477 – 487.

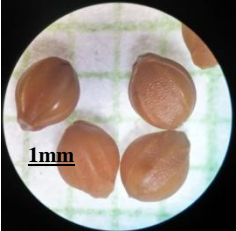


Zhou, M., Zheng, S., Liu, R., Lu, L., Zhang, C., Zhang, L., Yant, L dan Wu, Y. (2019) “The Genome-wide Impact of Cadmium on microRNA and mRNA Expression in Contrasting Cd Responsive Wheat Genotypes”, *BMC Genomics*, Vol. 20, No. 615, hal. 1 – 19.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Komposisi Nutrisi AB Mix (Frasetya dkk., 2019)

Nutrisi	Komposisi
Larutan A	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
	KNO_3
	Fe-EDTA
Larutan B	KH_2PO_4
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
	H_3BO_3
	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$
	$\text{Na}_2\text{O}_3\text{Si}$

Lampiran 2 Perlakuan Cekaman Cd

Foto	Keterangan
	Biji tanaman Jewawut aks. Buru Merah
	Morfologi tanaman jewawut usia 2 minggu setelah semai (sebelum <i>treatment</i>)
	Penanaman secara hidroponik sistem sumbu (<i>wick</i>) pada bak dengan Volume media 5 L + cekaman Cd. Sumbu yang digunakan adalah kain flannel yang dipasang pada <i>netpot</i> sebagai



media kapilarisasi
nutrisi ABmix



(a)



(b)

Morfologi tanaman
Jewawut aks. Buru
Merah perlakuan
Cd selama 28 hari,
usia 42 HST (a:
kontrol, b: 0,5 μM ,
c: 1,0 μM dan d: 1,5
 μM)



(c)



(d)

Lampiran 3 Hasil Uji ANOVA *one way* pada Parameter Morfofisiologi

a. Tinggi Tajuk Tanaman

ANOVA					
Shoot Length					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6403.749	3	2134.583	2039.005	0,000
Within Groups	33.500	32	1,047		
Total	6437.249	35			

b. Panjang Akar Tanaman

ANOVA					
Root Length					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	754.659	3	251.553	164.713	0,000
Within Groups	48.871	32	1.527		
Total	803.530	35			

c. Jumlah Daun Tanaman

ANOVA					
Number of Leaves					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	134.444	3	44.815	60,312	0,000
Within Groups	23.778	32	0,743		
Total	158.222	35			

d. Jumlah Tunas Tanaman

ANOVA					
Number of Buds					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.333	3	6.111	10,000	0,000
Within Groups	19.556	32	0,611		
Total	37.889	35			

e. Biomassa Malai Tanaman

ANOVA					
Panicles Biomass					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2066.549	3	688.850	1823.872	0,000
Within Groups	12.086	32	0,378		
Total	2078.635	35			

f. Kadar Klorofil Total

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Chlorophyll a	Between Groups	0,213	3	0,071	955.925	0,000
	Within Groups	0,002	32	0,000		
	Total	0,216	35			
Chlorophyll b	Between Groups	0,023	3	0,008	215.661	0,000
	Within Groups	0,001	32	0,000		
	Total	0,024	35			
Total Chlorophyll	Between Groups	0,374	3	0,125	4452.349	0,000
	Within Groups	0,001	32	0,000		
	Total	0,375	35			

Lampiran 4 *Coding sequences* Gen SiNRAMP1
(XM_004959079.3)

>XM_004959079.3 PREDICTED: *Setaria italica*
metal transporter Nramp1 (LOC101761696), mRNA
ATGGACGCCGCGCAGGGCGCCTGCGGGAGTGGTGGTTCGACGTCGAGGC
GCTCGCCGGACGGAGAGGGAGCGCCGCGACTAAGGAGCCAGCATGGA
AAAGGTTTTTGTGCCACGTTGGACCAGGATTCATGGTATGCTTGGCC
TACCTTGATCCCGGAAACTTGGAAACAGATTTGCAGGCTGGAGCCAA
TCACAAATATGAGCTCCTCTGGGTGATCCTGATTGGCCTCATCTTCG
CACTAATTATCCAGTCACTATCTGCTAATCTAGGAGTAGTCACAGGG
CGGCATCTTGCCGAGCTATGCAAGACGGAATATCCAAGATGGGTTAG
AATCTGCCTATGGCTGCTGGCAGAGTTAGCTGTGATTGCTGCAGATA
TCCCAGAAGTTATAGGGACAGCTTTTGGCTTTCAACCTCTTGTTCCAC
ATCCCTGTATGGGTGGGGTTCTCATCACCGGCTCAAGCACACTTCT
CCTCCTTGGACTGCAAAAATATGGGGTTAGGAAACTGGAGCTTTTAG
TTGCGCTATTGGTGTTCATCATGGCAGCATGCTTCTTCATAGAGATG
AGCATAGTGAAGCCTCCTTCAGAGGAGGTTATCCACGGACTATTTGT
ACCGAGTTTAAAGTGGTTCTGGTGCTACTGGAGACACTGTAGCCCTTC
TTGGGGCTCTTGTGATGCCGCATAATCTATTCCTGCACTCTGCCCTG
GTACTGTCAAGGAACACGTCCTCATCAGTAAGAGGAATCAAGGATGC
TTGCAGGTTCTTTCTTTTTGAAAGTGGCATAGCTCTGTTTCGTGGCAC
TTCTCATCAACATCTGTATCATCTCTGTCTCTGGAACCGTCTGCAAC
TCAAGGAACCTCTCACCGGATGACTCTGCAAAATGCAGTGACATCAC
CTTAGACTCATCATCCTTCCTCCTCAGGAATGTGCTAGGCAAGAACG
GTGCAGTTGTGTATGGTGTGGCACTCCTGGCTTGTGGAATAAGCTCA
ACCATCACTGGCACTTACGCCGGGCAATACATCATGCAGGGTTTTCTT
GGACATCAAGATGAAACAGTGGCTGAGGAACTTGATGACTCGTAGTA
TTGCCATAGTACCAAGCTTAATCGTTGCCATCATCGGTGGGTCCAGC
GGTGCTGGTCATCTCATCATCATCGCATCGATGATACTGTCCGTTGA
GCTCCCATTTGCTCTCATCCCCTTCTTAAGTTTCAGCAGTAGTAGCA
ACAAGATGGGTGAAAATAAGAACTCCATCTATATTATTGGGTTCTCG
TGGATCCTGGGATTTATTATTATTGGGATAAACATCTACTTCCCTCAG
CTCAAAACTAGTTGGCTGGATCCTCCACAACAAACTTCCGATTTACA
CTAACGTGCTTATCGGCATCATCATGTTCCCTCTCATGCTGCTCTAC
ATTTCTGCCGTGATCTACCTGACGTTTCAGGAAGGACACTGTCAAGTT
TGCGTCTCGCGGTGAGCTGCAGGCCATTGAAACTGACAAATCAAAGG
TTGCCAATGATAGCAGCAATGAGGAAAACAAGGAGGATCTTGTTTAG
TCCCAGTTTACAGGCATGCTTCGGTAAATGCTTGTATGTGACGTTTG

CGAGGACCATACGGATTACGAAGAAACAGAAATGACTTGTACTTCAG
CAGCACGTTTTAGAATAGAATCAAGTCATCAATCAAGTCTGGAGGTTG
ATTCAACGGTCCTAGAGAAGCTGATGACTAATATTCTGAAGAACTAT
GTTGCTGCTAATTGATATTCATACCGCACACTTGGAGAGAATGATAG
CAAGACAACCTGGCATTGATACTTAGAAGCTCTAGGAATTGTTCAAAG
CCAATTAGTGAGAACGAGCATGAAGGAGTTAGATCTCTGAGTTGTTT
ATGATACAAATTTCTACCGAAGCATTAGTTTTTTGAACTCTTTAATC
TAGACTAGAATCACTTGTATGCCGTTTTAATTCTGACTTATTAATGA
TCAGAATATGCTATGCTTAGAACGATGCAGAAGCAAGA

Lampiran 5 Coding Sequences *SiNRAMP6*
(XM_004962946.2)

```
>XM_004962946.2:101-1741 PREDICTED: Setaria
italica metal transporter Nramp6
(LOC101764036), mRNA
ATGGCCGCCGCCCCCGCCGGCGCCGGGGACGGCGCCTCCGCGGCCAG
GGCCGTCAAGGAGGAGGAAGAGGGCGCGCGCTCCTCCCCGCCCCCG
CGCCGGCCGGCTACGGCGACGAGGAGGAGGAGGAGGACCTCGAGGAG
CGCGCGTACGAGGCGGGGAGAAAGGTCATCGTGTGCATCTCGGACGG
GCCGGACCTGGAGAGCAGCGGCTGCGACGACGCGGCCCTCTGCTCCT
CGTCCGGGGCGGGCGCCGCCCTTCTCGTGGCGGAAGCTCTGGCTCTTC
ACGGGCCCCGGGTTCTGATGAGCATCGCGTTCCTGGACCCGGGCAA
CCTCGAGGGGGACCTCCAGGCGGGCGCCGTGCGCGGGGACACGCTGC
TGTGGCTGCTCATGTGGGCCACCGCCATGGGCCTCCTCGTGCAGCTC
CTCGCCGCGCGCCTCGGGGTCGCCACGGGCCGGCACCTCGCCGAGCT
CTGCCGGGACGAGTACCCCGACTGGGCGCGCCGCGCGCTCTGGCTCA
TGGCCGAGGTGCGCCATGGTGGGGGCCGACATCCAGGAGGTCATCGGA
AGCGCCATCGCCATCAAGATCCTCAGCAGAGGGTACCTGCCGCTCTG
GGCCGGCGTGTGCATCACCTCCTTGGATTGCTTTATTTTTCTTTTCG
TGGAAAACATATGGGGTGGAGAACTAGAAGCTGTATTTGCATTTTAA
ATTTGCAACTATGGCCATCGCCTTTGCATGGATGTTACGGACACTAA
GCCCAACATGAAAGACTTGTAGTTGGTATTTTGGTTCCAAAGTTGA
GCTCAAGGACAATAAGACAAGCAGTTGGGGTTGTTGGCTGTGTTATC
ATGCCCCACAATGTGTTTTCTTCATTCAGCACTCGTGCAATCGAGGAA
AATAGATCAAAATAAGGAATATCAAGTCCGTGAAGCATTGAGATACT
ATTCAATAGAGTCAACTATAGCATTAGCTGTCTCCTTCATGATAAAT
CTCTTTGTCAACAGTTTTTTGCAAAAGGATTCTATGGCAGTAAGGA
AGCTGGTAATATTGGCCTTGAAAATGCTGGACAGTATCTACAAGAGA
AGTTTGGTGGAGGATTTTTTCTATCCTCTACATTTGGGGGATTGGG
CTATTAGCAGCTGGGCAGAGTAGTACAATAACAGGAACCTATGCCGG
GCAGTTTATAATGGGCGGATTTCTTAATTTGAGGTTAAAAAATGGG
TCAGGGCATTGATCACCAGAAGCTTTGCAATTGTGCCCACTATAGTT
GTTGCTTTGTTCTTCAACACATCTGATTCTGCACTGGATGTTTTAAA
TGAGTGGCTCAATGTGCTCCAATCAATTCAGATTCCTTTTGCCTCA
TTCCACTCATAACCTTGGTTTTCGAAGGAGCAAGTTATGGGAATCTTC
AAAATAGGCCCTAATACCCAAGCTGTAACCTGGACTGTGGCCACACT
ACTGATCACTATCAACGGCTACCTCTTGATGGATTTCTTCTTCTG
AAATTGAGGCCATTATCCGGCGCACTCCTCTGCGTGGCAGTCCTC
```

ATTTATGCTTCATTTGTACTGTACCTCATCCTTCGGGGCACGGAGCT
GTCGGAGAAGATTGCCAAAGGGATTGCAACACTTTTTTCATGA

Lampiran 6 *Coding Sequences Gen SiMTP1*
(XM_00490324.4)

>XM_004960324.4:299-1555 PREDICTED: *Setaria italica* metal tolerance protein 1
(LOC101786284), transcript variant X3, mRNA
ATGGAAAGCCATAATTCATCACATCATCAGATTGCTGAAGTGAAA
ATGGATATCTCACCATCAGCTTCTGGAGCAGCAGGGAACAAAATC
TGCAGAGGTGCTGCCTGTGATTTCTCTGATGCCAGTAACACCTCG
AAAGATGCCAAGGAGAGATTTGCATCCATGAGGAAGCTTATAATT
GCTGTGATCCTTTGTATCATATTCATGACAGTGGAAGTGGTTGGA
GGCATTAAAGCAAACAGTCTTGCAATCTTAACTGATGCAGCTCAT
CTTCTTTCTGATGTGGCAGCATTTGCCATATCGTTATTCTCTCTC
TGGGCTGCTGGATGGGAAGCAACACCACAGCAGTCTTACGGGTTT
TTCCGGATTGAGATTCTTGGTGCATTGGTCTCCATTCAGCTCATA
TGGCTGCTTGCTGGCATACTCGTATATGAAGCTATTGTAAGGCTC
ATTAATGAGAGCGACGAGGTGCAGGGCTCCCTCATGTTTGCTGTA
TCAGCTTTTGGATTGTTTGTCAACATCATAATGGCTGTACTGCTA
GGGCATGACCATGGACATGGCCATGGACACAGCCATGGTCATGGA
CATTGCGATGACCATGGCCATGGTGATTGAGATGACCATTCACAC
CATGAAGAACAAGAGCAGGGCCATGTGCATCGCCATGAGCACAGC
CATGGAAGTTCTATTACTGTCACCACCCATCACCACCACCCCA
AGCACTGGACAACATCATGATGCTGAGGAACCATTGCTTAAGCAT
GAAGCTGGTTGTGAGGGTACCCAATCTGCTGCCAAAGCTGCTAAG
AAGCCTCGCCGCAATATCAATGTACACAGTGCTTATCTTCACGTG
ATTGGGGATTCCATCCAGAGCGTCGGGGTCATGATCGGTGGGGCT
CTCATCTGGTATAAGCCTGAGTGGAAGATCATTGATCTCATCTGC
ACCCTCATCTTCTCTGTGGTTGTAAGTACTGTTTACCACAATCAGGATG
CTGCGCAACATTCTTGAAGTACTGATGGAGAGCACTCCCCGTGAG
ATTGATGCCACCAGGCTCGAGAGGGGGCTCTGTGAGATGGATGGT
GTGGTTGCCGTCCACGAGCTTCACATCTGGGCCATCACAGTGGGG
AAGGTGCTTCTAGCATGCCATGTAACAATCGCAAGGGAAGCTGAT
GCTGATCAGATCCTTGACAAGGTGATTGGGTACATCAAGACGGAG
TACAACATCAGCCATGTCACCATTGAGATCGAGCGCGAGTAG

Lampiran 7 Coding Sequences *SiMTP12* (XM_004984345.3)

>XM_004984345.3:83-1582 PREDICTED: *Setaria italica* metal tolerance protein 12
(LOC101768530), mRNA

ATGGGCTTCCGCTTCGCCCCGCTCGCCGCCCCGCGCCGCGGCCTCC
CGCCGGGGCCCCCCCCCGCCGCTTCCTCCGCCACCTCGCGCTC
GCCTCGACGGCGGGAGCCACGCTGCTGGCCCCACTGGCTCGTC
CCCGCCCGCGCCACGTGGGCCACTCGCACCACCACGGCGGAGAG
GGCGGGGGCGAGGCCTCCGAGCGGATCTTCCGGCTGGGCCTCGCC
GCCGAGGTCGCCCTCACCGCGGGGAAGGCCGTACGGGATACCTC
TCCGGCAGCACCGCCATCGTGGCCGACGCCGCCACTCCCTCTCC
GACATCGTGCTTAGCGGGGTGGCTCTACTGTGCTACAGGGCGGCC
AAGGCTCCCAAGGACAAGGAGCATCCCTATGGACATGGAAAGTTC
GAGAGTTTAGGAGCTCTTGGGATTTCAAGTATGTTGTTGGTTACT
TCAGTGGGATTGCCTGGCATGCTTTTGAAGTTCTTCAGGGTGTA
ATGTCCTCTTCTCTGATATTATTGGCAACACGTTGCATGCCAT
CACGACCATGGCAACGGTGGGCATCATCGGAATAGATCTGGAA
CACCCAGTGCTTGCATTGAGCGTGACAACCTTTGGCAATAGCTGTC
AAAGAAGGGCTCTATTGGATCGCAAAAAGAGCTGGGGACAAGGAA
GGGAGTGGGCTGATGAAAGCTAATGCATGGCACCATCGTGCAGAT
GCTATTTTCATCTGTTGTTGCCCTAGTTGGGGTAGGTGGCTCTATT
CTTGATTGCCTCTTCTTGATCCACTAGCTGGACTTATTGTCTCA
GGCATGATTCTTAAAGCTGGTATTCAGACTGGATATGAGAGTGTA
CTGGAATTAGTTGACGCTGCTGTTGATCCTTCACTCCTACAACCA
ATCAGGGAAACTATTTTGAAGGTTGATGGCGTGAAGGGATGCCAT
CGGTTGAGGGGAAGAAAAGCTGGGACCTCATTATATCTCGATGTG
CATATTGAGGTATATCCTTTCTTGAGTGTGAGTGCAGCACATGAT
ATCGGGGAAACTGTCCGCCATCTGATTCAAAGGAGCACAATCAA
GTTGCTGAAGTTTTTCATACACATAGATCCCTCATACTCGATGGGC
CCCAACATGAACCTGAACAGGACTCTAAACAACCTTCAATCTAAGA
AATTCAGAAGCTATTCCACGGCAACAGAGTGCTGAAGCAATCGTG
TCTGATATTATTTCCCTCACATTTTTTCAGAGAAAATGTGCTCGAA
CATCTAATGCTGCATTACGTGCAAGGGAGAGTGTTGCTCCAGGTC
CAAGTTTCGATGTCTCCAGAAATTTGATTTGGGATGCAATGGAA
ATCGCAAAGCAAGCTGAAGAGGAGATAATGAGAGCTGATGCCAGC
ATAAGCCAAGTGAGTCTGCAGCTAAGATTGGGCCAACATATCAAG
CAACTTCAGCTTGCATCAAGCAAGAACATCGCTAGCGACCTACAT
GGTGGAGCACAGTAA

Lampiran 8 *Coding Sequences SiCAX2 (XM_004984044.4)*

>XM_004984044.4:278-1594 PREDICTED: *Setaria italica* vacuolar cation/proton exchanger 2 (LOC101755273), mRNA

ATGATGGGGGCTGAGAAGCCGGCGCTGGGGTTCCCGGGGGGCGCG
GAGATGGACGAGCTGGAGCTGGCGTCGCCGGCGGGCTCGCCGGCG
CCGCCGCCCGGAAGATGCACTCCCTGGACTTCGAGCACATCGGC
TCCCTCGCCGCGGTGGCCGAGTCGCTCTCGCGCGAGAGCAAGTGG
GGGAGGGCGCTCACCAGCGTGC CGCTCGTCATCTTCCAGGCCAAG
ATCAACGTGCTCCTCCCCTTCGGCCCCGCTCGCCATCATGCTCCAC
TACCTCAGCGGGAAACACCAAGGATGGGTTTTCTTTTTCAGCTTA
ATTGGTATAACACCATTGGCCGAGAGATTGGGATATGCAACTGAG
CAACTTGCTTGCTACACTGGCCCAACAGTTGGGGGGCTCCTGAAT
GCTACATTTGGAAATGCAACGGAAATGATTATATCAATATATGCG
CTGAAAAATGGCATGATTTCGTGTGTCGCCAGCAGTCACTGCTAGGC
TCAATATTGTCAAATATGCTCCTTGTTCTTGGCTGTGCTTTCTTT
GCTGGTGGTCTTGTCCATTCTGACAGGGATCAGGTCTTCAATAAG
GCATCAGCCGTTGTAAACTCTGGACTACTATTGATGGCTGTCTTA
GGCCTAATGTTCCCAGCAGTGCTTCACTTCACACATTCAGAAGCT
CAGTACGGAAAATCTGAAGTAGCACTTTCAAGGTTTAGTAGCTGC
ATCATGCTTGTGGCCTATGCAAGCTATCTATTTTTTTCAACTAAAG
AGCCACCGCAGTATGTACAGCCCAATTGGTGATGAAGAAGAAGCC
ATTGAGGATGAGGAGGATGAAAAGGAGATAACACAATGGGAGGCC
ATCTGCTGGCTTTTTTATATTGACTATTTGGATTTCACTACTCTCA
GGGTACCTGGTAGATGCCATTCAGGGCGCGTCTGATTCATTAAC
TTGCCAGTAGCCTTTATTAGTGTTATTCTGCTTCCTATAGTGGGG
AACGCTGCTGAACATGCTAGTGCCATTATGTTTGCCATGAAAAAC
AAATTGGACATTACGTTAGGAGTTGCAATAGGGTCATCAACACAG
ATCTCCATGTTTGTGATTCCATTCTGTGTAGTAATTGGCTGGATA
ATGGGGCAAGAAATGGACTTGAATTTTCAACTATTTGAGACAGCA
ACTCTATTTATAACAGTACTGGTGGTGGCATTTCATGCTACAGGAG
GGCACGTCAAATTTTTTAAAGGACTTATGCTCATCTTATGCTAC
CTCATAGTTGCTGCAAGCTTCTTCGTCCATGTTGATCCTGATGCA
AATGAGAATTAA

Lampiran 9 Coding Sequences *SiZIP4* (XM_004970801. 2)

>XM_004970801.2:200-3064 PREDICTED: *Setaria italica* TPR repeat-containing protein ZIP4 (LOC101784478), mRNA
 ATGAAGATCTCCGAGCTCTCCCCGAGTACCGGCAGCCGCCGCCG
 CACGCCGGCCTCCTCACCGACCTCAACAGGGTCGTCGCCGACGTC
 GAGGCGTTCGACACCTCCGATCCCTCCTCCCCGGAGAAGCTCGCC
 GCCGATCTCCGCCGCTCCTCACCAAGCTCGCCTCCGCCGCTCG
 TCTTCCCCCTCGGGCCTCGACGAGGCGTTCAGGCTCAAGGTGTGG
 AACCTCGGCTTCCGCTCTGGAACGCGTGCCTCGACCGCGCCAAC
 CACAGCTTCCCCGCGAGGGTCGCGGAGGCGGAGATCCGGCAGGCG
 GCGCCGGAGCTCCTCCTCGTCGCTGGCCTCCCCGAAGACATCCCC
 AACGCCCCGAGCGAAGGCGGCGTCTTTTTCCACCGCACCCGGGCTG
 ATCTGGCTTGAACCTCGGCCGCGCCGACCTCGCCTCCGCCTGCTTC
 GAGAAGGCCACGCCGCTGGTCTCCGCCGCCGACACGGAAGGGGAT
 CGGGCCGTCTGTGGACCTCAACCTCGCGCGGGCGCGCGCGGCG
 TCCAGCGCGGGCGAGCAAGCTCTCGCCGTCGCGTCTGAGCCGG
 TCCAAGCCCCCTCGCGGCGGCGTCTCCCGAGGGCGTCAAGGCTCTC
 GCCGAGGAGTACCTCCGCATCGGCAAGGTCGCTCTCGCCACGAAA
 CCCCCGGATCCCCGCCCTCGACGCGTCCAACCTCTTAACCGAGGCG
 CTTGATCTCTGTGAGAAGGCCGCGGCCTCCCCCTCCCGCGCCACT
 CCGCCGACCCCGGGATCCACTCCTGCGACTCCGAATCTCCAAGTG
 ATCAAGGATCAATGCCTCCGCTTCCTCGCCGTCGAGCGTCTCGAA
 GCCAACGACTACGAGGGCACCCCTGCGCTGTATCAGGGTCTGGAGA
 GCCTCGCTGGGGCTGGGGGAGGAGCATCCCAGCATTGGGTTTCATG
 GCACTGCGCGCGTGCCTCGGCAGCGGGAACCTTGGCGGAGGCCGAG
 ATGGAGCTCGAGACGCTCATGGCGAACGCCGAAGCGCCGGACTGT
 GTGTGCGTGTGCGCGGCTGAGCTGTACCTTGCCAGCAGGGGGGCC
 GATGCTGCGTTTTAAGGTGCTCGTTGCGCTTGCCCGCACGGTGCCGT
 GCCGGTGCGGCAGCTGCTGCAGCAGTGAGGGTGTGGAAGAAGGTG
 GTTGAGAATGCAGGGGGCGGAACCTGGGCGTGCAAGAGCGATCTCT
 GAGCTCGTGTGCGATGAGAGGGTGGTAAAGCTGTTTCGATGGCCCT
 GCTAACACCCACGAGCGTAGCACAATGCATGCACTGCTATGGACC
 TGTGGCACTGAGCATTTCACGCAAAGAACTATGAGATCAGTGCG
 GATTTGATTGAGAGATCGATGCTTTATGTTTCCCGTGACGAGGAA
 AGCAGATCCCCGCCGCAAGCTGCTTCCGAGTACTTTGCCTTTGC
 CATATGGCACTTCAGCATCTCGATCGTGCCAGGAGTTTATCATT
 GAGGCCGAAAAGGTTGAACCCAATATCCGCTGTGCTTTTCTGAAG

TTTAAGATCCTTCTGCAGAAGAAGGAGGAAGGTGAGGCTATCAAG
CTGCTGAAAACCATGGTGGGCTATCTAGACTTCAACCCTGAGTTC
CTGACACTCTCAGTTCATGAAGCTATTGCCTGCAAGTCTGTCCGT
GTGGCTATTGCTGCATTGACCTTCCTTCTAGGCCGATACTCTGCT
GGAAAGCCAATGCCAATGCCAATGACAGAGGCTGCTGTCCGCCGG
AACCTTATAGCCCTCTTTCTCCGTGAGCCAGGCTCTGAGGCTGAG
ATCCTGAAGTACTCAAGACGTGCCAAGCTACGGATGGCTGAGCTT
GGAATGGAAGCTATTTTTGGGAAGGGAAGTGTAGGGCTGCGTGAA
CGGAATTGGTTTTGCAGTCAGTACATGGAATATGGCTGTAAAGATG
GCAAAGGAGAAGAAGCATGATTACTGTAGTGAGTTCTTTGAGCTT
GCAGCTGAATTTTTTCAGCTCAGGTAATGGTGAAGATGATGCTAAC
CGTCTCTTGGCTTGCAAATCATTGATCATGAGTGTGAGTGCCATG
CTCCTTGCTGAGGAGCTAAACAAATCTCCATTATCAGACTCTGAC
CTTAAAAAGGGCGTTGAGATGCTCAGCAGAGCTGGCAAGCTATTA
CCCTTGACTTTGCCTTCAGCTCCAGTGACCTCTGATCAATTGGAG
GATAACAACCTTGCTTTTTCTTCATACCTTCAACTTCTACCATCTT
CTCAACAGGATGGACACTAGTGCACACCCTCAGCAGCTCCAATTA
GTCAAGAATTTTTGCAGCATCTAAAGCATGTACACCAGGTCATCTT
CTCAGACTTGAAGAAATAGCTTCTCAAGGTACCCAACCAAACCTA
CAGGTTGCTGAGTTTTCTCCTGAAGGCCAGCATCACTACTGCCCTT
GCTTCTCACTCGCCAAACTATGGGATAATCAGCACTGCCCTCAGA
AGGCTAGTAGGCGTTGCTGGTCTCCAAGACTTCAGTGGTAGCATG
AGTGATGCAGTCTATGACGTATTTTCGACAAGCTTACCAGATTGTG
GTTGGACTTAGAGATGGTGAATATCCATTTGAGGAAGGGAAGTGG
CTTGCAATGACTGCATGGAACAAGTCAAATTTAGCTTTGCGGCTT
GGGCAACGTTGCTGCTAGAAAATGGATGAAGATGGGAATAGAT
CTTGCTCGGCATTTTTCAGAGCATGAAGCAGTACGTATCAGGAATG
GATGAATACTTTGAGCATTTTTCAGAAAGTATCCGGTAAAGAACCT
GATGAATGTAGCCAGCAAGATGGGGCACCAAGTATTAGCTTGTCT
GGTAGCGTGTCTCAACCTGGATTAGTTTTAG

Lampiran 10 *Coding Sequences SiIRT1 (XM_004975817.2)*

```
>XM_004975817.2:91-831 PREDICTED: Setaria  
italica vacuolar iron transporter 1.1  
(LOC101785992), mRNA  
ATGGACGGCGACGGCGCCTCTCGGGGCCAGCCGATGCTGGAGAAG  
CGGCCGAGCCACCGGGAGCGTCACTTCACGGCGGGGGAGGTGGTG  
CGCGACGTCATCATGGGGGTGTCCGACGGCCTCACCGTGCCCTTC  
GCCCTCGCCGCGGGGCTCTCCGGCGCCAGCGCACCCCTCCTCGCTC  
GTCCTCACCGCCGGCCTCGCCGAGGTCGCCGCCGGCGCCATCTCC  
ATGGGACTCGGAGGGTACCTTGACGCCAGAGCGAGGCAGATCAT  
TACAAGCGGGAGATGAAGAGGGAGCAGGAGGAGATCATCACCGTC  
CCGGACACTGAGGCTGCTGAGATTGGAGAGATCATGTGCGAGTAT  
GGGCTCGAGCCACACGAGTATGGCCCTGTCATAGATGGGCTCAGG  
AGGAATCCTCAAGCTTGGCTAGAGTTCATGATGAGGTTTGAGCTG  
GGATTGGAGAAACCAGATCCGAAAAGGGCCCTGCAAAGTGCCTGT  
ACAATCGCACTATCTTATGTGATCGGTGGATTGGTCCCCTCTCCTG  
CCCTACATGTTTCATCTCCACAGCTCAAATGCCATGCTCACATCT  
GTCGGAGTCACACTGGTAGCGCTGCTTTTTTTTTGGCTACATCAAG  
GGTCGCTTTACTGGGAACCGCCATTACACAGCGCTGTCCAGACT  
GCTATTATTGGAGCGCTTGCTTCAGCTGCAGCATATGGGATGGCA  
AAGGCTGTTCAAGCTAGATAG
```

Lampiran 11 *Coding Sequences SiIRT2 (XM_004986275.3)*

>XM_004986275.3:15-1163 PREDICTED: *Setaria italica* fe(2+) transport protein 2 (LOC101768396), mRNA

ATGTATTCCCAAACACCAAGAAGAGTGTTCGTCTCACCCTCCTC
 GTGCTCACATCCTTCTCACTGGCCGTACCACCTTTGCACAAACC
 GAGCCAGCTGACGAAGCGCCACCGGCGACGAGGACCCATGGCGTG
 TCGGGCGGTCCGGACGTGGGCGGGAAATGCCACAGCGTCCCCAGG
 GCGCTGCACCTGAAGCTGATCGCCATCCCGGCGATCCTCGTGGCC
 AGCATGGCCGGCGTGTGCCTGCCGCTCGTCTCCCGCTCCGTCCCC
 GCGCTCCGCCCCGACGGCAACCTCTTCGTGCTGTCGAAGGCCTTC
 GCGTCGGGGGTTCATCCTCGGCACGGGTTACATGCACGTCTCCCG
 GACTCCTTCAACGACCTCACCTCGCCCTGCCTGCCGCCGAGGCC
 TGGGCGGAGTTCCTCGTTCACGGCGTTCGTGCGCCATGCTCGCCGCC
 GTGTTACAGCTCATGGTCGACTCGCTCATGCTCTCGTTCACACC
 CGGGGCAAGGGCAAGGCTAGCGCCGCGGTGCGGCACCATGGCCAT
 GGCAGCCCTCCTCCGCAGGGACACTGCCACGTGCACGGGCATCTG
 GACATGAGTAGTGAGTCGGCGAGCCCGGAGTCCGCCGTGGACGAG
 GTCGAGGACGACGACGTGGAGGCCGGCCGAACGCGGCTGCTCAGG
 AACCGTGTCAATTGTTTCAGGTCTTGAGATGGGGATCGTGGTGCAC
 TCTGTGGTGTATCGGGCTGGGCATGGGCGCGTCGCAGAACGTGTGC
 ACGATCCGGCCCCCTCGTGGCGGCGCTCTGCTTCCACCAGCTGTTT
 GAGGGGATGGGGCTCGGCGGCTGCATCCTGCAGGCTGAGTACGGC
 GCCCGGATGAGGTGCGGTGCTGGTCTTCTTCTTCTCCACGACGACG
 CCGTTCGGGATCGCGCTGGGGCTCGCTCTCACCAGGGTGTACAGC
 GACAGCAGCCCGACGGCGCTCATCGTGGTTCGGGCTGCTCAACGCC
 GCGTCGGCGGGGCTGCTCCACTACATGGCGCTCGTCGACCTCCTG
 GCGGCGGACTTCATGGGGCCAAGCTGCAGGGGAGCGTCAGGCTC
 CAGCTCGTCTCCTTCTTCGCCGTCTCCTCGGCGCCGGCGGCATG
 TCCGTTCATGGCCAAGTGGGCGTGA

Lampiran 12 *Coding Sequences SiHMA2 (XM_004966055.2)*

>XM_004966055.2:376-3663 PREDICTED: *Setaria italica* cadmium/zinc-transporting ATPase HMA2 (LOC101761756), mRNA

ATGGGGGACGCGGCGCCGCCGCGGGCGGGCGGCAAGGCCCAGAAG
 AGCTACTTCGACGTGCTGGGGATCTGCTGCCCCCTCCGAGGTGCCG
 CTCGTCGAGAGGCTCCTCGAACCGCTGCCGGGCGTCCGCAAGGTC
 ACCGTCATCGTCCCCTCCCGCACCGTAATCGTCTCCACGACGCC
 GACGCCACCTCCCCGGCGCACATAGTCAAGGTGCTGAACCAGGCG
 AAGCTTGACGCGTCTGTTTCGAGCTTACGGCAGTGGCACAGAGAAG
 ATAACGAACAAATGGCCGAGCCCGTACGTTCTCTTGTGTGGAGTT
 TGTCTGCTCGTATCACTCTTCGAGCACTTCTGGCGTCCCCTGAAA
 TGGTTTGCCTGGGGGCGGTGGCTGCCGGCATCCTACCGATCCTT
 ATGAGAAGCTTTGCAGCTGCCCGGAGGCTCACCCCTTGATGTCAAC
 ATACTCATGTTGATTGCAGTTTCTGGGGCAATAGCTCTGAAGGAC
 TACTCTGAAGCTGGGTTTCATTGTTTTCTATTCTACTACAGTGAA
 TGGCTTGAGACCAGGGCGAGCCACAAGGCGACTGCTGGGATGTCA
 TCGCTAATGAGCATGGCACCACAAAAGGCTGTTCTAGCAGAGACT
 GGGCAAGTGGTTGCGGCTCAGGATGTCAAGGTCAATACAATAATA
 GCTGTCAAAGCTGGGGAAATCATCCCAATTGACGGTATTGTTGTC
 GATGGACGGAGTGAGGTTGATGAGAGTACCCTCACCGGGGAGTCC
 TTCCCGGTGGCAAAGCAGCCAGAGTCCCAGGTCTGGGCTGGCACA
 CTCAACATAGATGGTTATATTGCTGTGAGGACAACCTGCTATGGCT
 GACAACCTGTCAGTGGCTAAAATGGCAAGGCTAGTTGAAGAAGCA
 CAAAACAGTCGATCCAATACACAGAGGCTGATTGATACATGTGCC
 AAGTACTATACACCCGCTGTTGTTGTTCATGGCTGCGGCAGTGGCA
 GTGATCCCTGTGGTGATCAGAGCACACAACCTCAAACATATGTTT
 CAATTGGCCCTTGTCTTCTAGTGAGTGCTTGCCCATGTGCTCTA
 GTGCTGTGCGACGCCGATTGCCACCTTCTGTGCTCTACTGACGGCT
 GCAAGGACAGGGCTCCTGATCAAAGGAGGGGATGTCCTTGAATCC
 TTAGCGAAGATCAAAATTGCTGCTTTTGATAAGACTGGTACAATT
 ACTAGAGGAGAATTCTGTGTCGAGGAATTCAAGGTAGTTGGTGGAA
 CGTGTCTCCATTCAACAACCTCTTTACTGGGTTTCAAGCATTGAA
 AGCAGATCAAGCCACCCAATGGCATCTGTGCTTGTGACTATGCT
 CAATCAAAATCAGTGAACCAAAATCTGATACTGTTACTGAGTTC
 CAAATCTATCCTGGAGAGGGAATTTATGGTGAAATTGATGGGGAA
 GGAGTTTATATTGGGAACAAAAGAATTTTGTCTAGGGCCTCATGT

GAAACAGTTCGGACATCGAAGACATGAAAGGAGTCACTGTTGGA
TATGTTGCCTGCAAAAGGGAATTGATCGGAGTATTTACTCTGTGC
GATTCTGCCGAAGTGGATCAGCTGAAGCCATCAAGGAGCTGAGA
TCACTTGGTATCAAGTCAGTGATGCTTACTGGGGATAGTGCTGCA
GCGGCTGCATATGCGCAAGAAGCAGCTTGGCAACATCCTAGATGAG
GTTTCGTTCTGAACTTCTTCCGGAGGATAAAGTGAGAATTGTTGAT
GAGCTCAAGGCAAAACATGGCCCTACGCTGATGATTGGAGACGGC
ATGAATGATGCCCCGGCATTGGCTAAGGCTGATGTTGGAGTCTCC
ATGGGTGTATCTGGTTCAGCTGTTGCAATGGAGACGAGTCACATC
ACGCTGATGTGCAATGACATCCGCAGGATTCCAAAGGCTGTCCAG
CTGGCACGAAGGACGCACCGGACTATCATTGTGAACATCATCTTC
TCAGTGATTACTAAGCTTGAATTGTTGGACTTGAATCGGTGGA
CATCCGCTTATTTGGGCAGCCGTCCTGGCAGATGTCGGCACATGC
TTGCTGGTGATCATGTACAGCATGTTGTTACTGAGATCCAAGAGT
GATCGGAAGGCGAAGAAATGTTGTGCCTCTTACAGCATGGATCA
CATGCCAAGAAACATTGTGTTTCCGGCCACTGCTCAGATGGTCCG
TGCAAGTCAACAGGCAGTTGCAAAGAATCGTCTTCTGGTAAGCAT
GGCTGCCATGATCATGGTCATAGCCACAGCCACTGCATAGAGCCG
AGCAACCAGCAGCCTACGGAAAAGCATGCTTGCCATGATCACGAC
CACAGCCACAGCCACTGCAAAGAGCCCAGCAACCAGGTGGTTACA
GAAAAGCATGCTTGCCATGACCACGGGTATACTCATAACCACCGC
AAGGAGCCAGGCAACCAGGTGCTTACTGAGAACCATGGTTGCCAT
GATCATGGTCATAACCCATGACCACTGCAAGGAGCTGAGCAGCTCG
CACATCATCAACAAGCATGATTGCCATGACAATGAGCATAGCCAC
TGCAAAGAAGCCCATGCTTCGCAACATTCTGACAGCAACAGCACA
TGCCATGAGCATGAGCATAGCCACTGTGAAGAACAACAACCATTCA
CATTCTGCAGGTGAGCATGAGCATAGCCACTGTGAAGAGCACAAG
CATTACATTCTACAGTTGAGCATGCTTGCCACGACCATGATCAT
GAGCACGAGCATCATTGCCATGCTGAGCAGCCACTTGTGCACATC
GCGGATACACACCACTACCATGACCACGAGCATGGACATGACCAT
GGGGAGATTGAGGAATCAGAAACGGACTGCCATGCCGAGGTACAG
CACCACCACAGCCATTGCTGCCATGAGCCTCATGTGCAGGAGAAG
AAGATTGCTGCTGAGCCAGTTCAAGAAGTCTCCATCTCTATCAGT
TCACTACCTGATGAGAATCACGAGCAGCATAACCAGTGCAGCCAC
CGCAGTGATGAGCACAAGGTGGCAGATTGCACGAACCATCTGAAG
GCGAAAGACTGCGTTCCACCTCCAGCTGACCTCGTGAGCAGAAAC
TGTTGCAGCGTGACCAGCAGCAACAAGGGGTGCGGAAGCAAAGGG
AAAGACATCTGCTCGAGCTGGCAGGCCGTGTGCGCCAGGGAGACC
AGCCGGTGTGTCAGGAGCTACGTGAAGTGCCCCAGGACGAGCAGC

TGCTGCAGCCACCCCATGCTGAAACTGCCCGAGATCGTGGTAGAG
TAG

Lampiran 13 *Coding Sequences SiHMA3* (XM_012843843.2)

>XM_012843843.2:217-2844 PREDICTED: *Setaria italica* cadmium/zinc-transporting ATPase HMA3 (LOC101778475), transcript variant X3, mRNA
 ATGATGGGTGGTGTCTGAGAGGCCAGCGAAGGCGCCAGGAGCCGCC
 GAGCTCGAGGAGAGGCTGCTGCGGCCGCCGGCGGGCGGCGAGGAGC
 CGAGATCTTGACGGCGGGCGGAGGAGGAAGAGGGGGAAGTGGGAG
 AAGACGTACCTGGACGTGCTGGGCGTCTGCTGCTCCGCGGAGGTA
 GCGCTCGTTCGAGCGGCTGCTGGCGCCGATCGACGGCATCCGGGGG
 GTCACCGTCGTTCGTCCCTCCCGCACCGTCATCGTCGAGCACGAC
 CCCGCCCGCTCTCCCTACCGATGAAGGCTCTGAACAGGGCGGGC
 CAGGAGGCGTCTGAGCGCGCGTACGGCAGCAGCGGGCGGGTTCGTC
 GGCAGGTGGCCCAGCCCGTACATCCTCGCCAGCGGGCGGCTCCTC
 CTCGCCTCCTCCCTCGCGCCGCTCCTCCCGCCGCTGCGCTGGCTG
 GCGCTGGCGGGCGGCCTGCGCCGGCGCGCCACCGGTGCTGCTCAGG
 GCGCTCGCCTCGGCGACAAGGCTTGCCCTGGACATCAACGTGCTC
 ATGCTCGCCGCGGGCGGCCGGCGCCCGCGCTCGGGGACTTCGCG
 GAGGCAGGCGCCATCGTGTTCCTCTTCACCACCGCCGAGTGGCTC
 GAGACGTGGCGTGCACCAAGGCCACCGCCGGGATGTCGTTCGCTC
 ATGAGCATGATCCCGCCAGGGTTCGTCTCCTCGCCGACACCGGGAG
 GTCGTTCAGCCTGCGCGACGTCAAGGTTCGGCGCCGTCGTTCGCGGTC
 AGGGCGGGGGAAGTGGTGCCGATCGACGGCGTGGTTCGTTGACGGG
 CAGAGCGAGGTTCGACGAGAGTAGCCTCACCGGCGAGTCCTTCCCC
 GTGCCAAAGCAGCCCGCTCGGAGGTCTGGGCCGGCACCATGAAC
 CTGGATGGTTACATTGCCGTGAGGACAACAGCTCTGGCCGAGAAC
 TCGACGGTGGCAAAGATGGAGAGGCTGGTGGAGGCGGGCGCAGAAC
 AGCCGGTCCAAGACGCAGCGGCTCATCGATTCTTGCTCAAAGTAC
 TACACGCCGGCCGTGGTTGCTCTTGCAGCAAGTGTGGTTCTTGTC
 CCCCTGCTGCTGCGAGCACAGGACATGCGAAGATGGTTTTCGGCTG
 GCCTTAGTCCTGCTGGTGAGCGCGTGCCTGCGCGTGGTTCCTG
 TCGACGCCGGTTCGTACGTTCTGCGCGCTCCTGAGGGCGGGCAGG
 ATGGGGGTTCTCATCAAGGGAGGGGACATTCTTGAGACACTAGGT
 GGGATCAGGGTTGCGGCATTCGACAAGACGGGAACATACAAAA
 GGGGAGTTCAGCATTGATGGATTCCATGTGGTTGGGGACAAAGTT
 GAATTGAGCCAGCTTCTTTACTGGGTGTCTAGCATTGAGAGCAAA
 TCAAGCCATCCAATGGCAACTGCACTTGTGGAGTACGCTCAGTCC
 AAATCCATCCAGCCGAAGCCGAAAACGCGACTGAATTTGCGATC
 TACCCCGGGGAAGGCATCTATGGGGAGATCAGTGGAAAGACATGTC

TACATTGAAAACAGAAGGATCATGGCAAGGTCCTCATGCTACACA
GTACCAGAAATGGATGATCGAAAAGGCGCGTCGATCGGCTATGTG
ATCTGCGACGGGGATCTAGTGGGGGCGTTCTCGCTCTCCGACGAC
TGCCGGACCGGCGCGGGCGGAGGCGATCCGCGAGCTGAGATCAATG
GGGATCAAGTCGGTGATGCTGACAGGGGACAGCAGGTCGGCGGCC
ATGCGCGCGCAGGAGCAGCTAAGGGGCGCCATGGATGAGCTCCAC
CCGGAGCTCCTCCCGGCGGACAAGGTCGACTCGTCGGCGAGCTC
AAGGCGCGGGACGGGCCGACGATGATGGTCGGAGACGGCATGAAC
GACGCCCCCGCGCTGGCCATGGCGGACGTCGGCGTGTCCATGGGT
CTGTGCGGGCTCGGCAGCCGCCATGGAGACCAGCCACGCCACGCTC
ATGTCCAGCGACATCCTCAGGGTGCCCGCCCGCTCGGGCTCGGG
CGGCGCGCACGCCGGACCATCGCCGTAACGTTGGTTGTCTCCGTC
GCCCGAAGGCCGCCGTCGTCGCGCTCGCCGTCGCGTGGCGACCC
GTGCTGTGGGCGGCCGTGCTCGCCGACGTCGGGACGTGCCTGGTC
GTCGTGCTCCACAGCATGACGCTGCTGAGGGAACCTGGGACACGG
AGGGGAGGGAAGGACGAGGTGTGCCGCGCCACGGCGAGGTCGCTG
GCCATGAGGTCGTCCCAGCTCGCCGACGATCGAACGGCGCGACG
GCGAGTGTTTCAGGGACCAGATGTTGGAGGAAGTAGAAGCTGCCGT
TGCTGTGAGAAGCCAGGAAAGTCGTCTGAGCAGGAGCACTCGGTT
GTGATCGACATACCGGCGGCATCATCATCTGCCGAGCATCGA
GAAATCCAGATTCTCGCGCCACGGCGAAAGGCAGCGGGCGGTGGA
TGTTGCGGCGCCGGCAAAGCTTGTGGTGCTTCCACGGTGACTTCT
GCAGCTGACGTTCCGAGAAAATGTTGTGCCCGTAAAGAAGACAGC
CGTGTGAGTGTTAAGACAGCCTGCTGCAACAATGGAGGTGGTGCG
CGGGGTTCTCCTAGGTAG

Lampiran 14 *Coding Sequences SiHMA4* (XM_004951511.4)

>XM_004951511.4:386-3310 PREDICTED: *Setaria italica* copper-transporting ATPase HMA4 (LOC101778281), transcript variant X2, mRNA
 ATGGAGCAGAATGGAGGGAGCCACCTCAAGGAGCCGCTACTCCCC
 GCGTCTTCTGGAGCTTCTCCTGCCGGTGCATCTCCAAGGAAGGAG
 AGGAAGACAGGGAAGATCATGTTTCAGTGTCCGCGGCATCTCCTGC
 GCTTCTGTGCCGTGTCGATAGAGACTGTTGTGGCGGGCTTGAAA
 GGGGTGGAGAGCATCCAGGTCTCCCCTCTTCAGGGCCAGGCTGTG
 GTTCAGTACAGGCCGGAGGAAACAGATGCAAGAACCATAAAGGAG
 GCTATTGAGGAGCTCAACTTTGAGGTAGATGAACTTCATGAACAA
 GAAATTGCTGTTTGCAGGCTTCGGATAAAAGGAATGGCTTGTACA
 AGCTGTTCTGAATCTGTTGAACGAGCACTTCAAATGGTACCTGGA
 GTTAAAAAGGCTGCAGTGGGTCTTGCTCTAGAGGAAGCTAAAGTC
 CACTATGATCCAAATGTCACTAGTCGTGATCTTATAATTGAGGCT
 GTTGAAGATGCTGGATTTGGGGCTGATCTCATTAGTTCTGGTGAC
 GATGTGAACAAGGTGCATCTAAAGCTTGAGGGTTTGAGTTCTCCA
 GAAGACACCAAACCTCATTCAAACAGCACTGGAACTGCAGAAGGG
 GCGAACCATGTTGAATGGGACACAGTACAGCAGACGATAAAAGTC
 GCATATGACCCCTGATATCACTGGTCCAAGGTTACTTATTCAGTGC
 ATTCAGAATGCTGCACAGCCCCCTAAATGCTTTAATGCTCAGCTTG
 CACTCACCACCGAAGCAAAGAGAAGCAGAGCGCAATCACGAAATT
 AGGAATTACAGGAACCAATTTCTCTGGAGCTGCCTGTTTTCGGTT
 CCTGTGTTCTGTTCTCCATGGTTCTTCCTATGATTTCTCCTTAT
 GGGGATTGGTTGTCTTATAGGATCTGCAACAACATGACGATAGGC
 ATGCTACTACGGTGGTTGCTATGTTCCCCAGTTCAGTTTATTGTT
 GGTTGGAGATTTTACATTGGAGCCTATCATGCACTGAAACGAGGA
 TACTCAAACATGGATGTGCTGGTTGCTTTGGGAACCAATGCTGCC
 TACTTCTATTCTGTGTATATTGTTCTGAAAGCACTAACATCAGCC
 TCATTTGAAGGACAGGACTTTTTTTGAAACAAGTGCTATGTTGGTA
 TCTTTTATATTGCTGGGAAAATATCTGGAGGTGGTGGCAAAAGGA
 AAGACATCAGATGCATTGTCAAATTTGACAGAGCTTGCACCAGAA
 ACAGCTTGTCTTCTTTCTTTTGACAAGGACGGAAATGTCATTTCA
 GAAACAGAGATCAGCACTCAGCTACTTCAAAGAAATGATGTCATC
 AAGATTGTGCCTGGCACAAAAGTCCCTGTTGATGGTGTGTCATC
 AAAGGTCAAAGCCATGTCAATGAAAGTATGATAACTGGGGAAGCA
 AGGCCTATTGCAAAGAAACCTGGAGACAGGGTTATTGGTGGTACT
 GTAAACGATAACGGTTGCATAATTGTTAAGGCCACCCATGTCTGGG

TCAGAAACAGCTTTGTGCGCAAATAGTGCAGTTGGTTGAAGCTGCT
CAACTTGCAAGAGCTCCAGTGCAGAAGTTAGCAGACAAGATTTCA
CGTTTTTTTTGTTCCAAGTGTGGTGGTGGTTGCATTTCTTACATGG
CTCGGCTGGTTTCATACCTGGACAATTTACCTCTACCCTGCACAA
TGGATTCCAAAGGGCATGGATAGTTTTGAGCTTGCTCTGCAGTTT
GGAATTTCTGTCCTAGTTGTTGCATGCCCATGCGCTTTGGGACTC
GCTACACCAACTGCTGTTATGGTTGCCACTGGGAAAGGTGCTTCT
CAAGGTGTTCTCATTAAAGGTGGAAATGCACTAGAGAAAGCTCAT
AAGATTAAGCTATCATATTTGACAAAAGTGGAACTGACTGTT
GGCAAACCTTCTGTGCTTCAAAGTCTTCTCGAAGATACCG
CTTCTAGAAGTATGTGATTTGGCTGCTGGTGCAGGCAACAGT
GAGCATCCTTTATCAAAAGCTATTGTTGAGCACACAAAGAAGCTC
AGGGAACAATATGGATCTCACAGTGATCACATGATGGAATCAAGG
GACTTTGAGGTGCATCCAGGTGCAGGGTCAAGTGGCAATGTCGAA
GGCAAGCTGGTTTTGGTTGGCAACAAAAGGCTCATGCAAGAATTT
GAAATTCCTACTGAGCCCTGAGGTGGAGGCATACATGTCTGAAACG
GAAGAGCTTGCTAGGACCTGTGTTCTTGTGCTATCGACAAGATT
ATTTGCGGGGCTCTTGCCGTGTCAGATCCTCTGAAACCTGAGGCA
GGCCATGTCAATTCGTACCTTAATTCTATGGGCATATCCAGTATC
ATGGTGACAGGTGATAATTGGGCTACAGCTAAATCCATAGCAAAG
GAAGTCGGGATCAGCCAGGTGTTTGTGAGATCGATCCAGTTGGA
AAAGCAGAAAAGATCAAGGACTTGCAGATGCAAGGGTTGACGGTG
GCAATGGTTGGTGACGGGATAAACGACTCGCCAGCCCTGGCGGCA
GCAGATGTGGGCATGGCGATCGGCGCTGGCACGGATGTGGCCATC
GAGGCTGCCGACATCGTCCTCATGAAGAGCAGCCTCGAGGACGTG
ATTACCGCCATCGATCTCTCGCGCAAGACCCTCTCCAGGATCCGG
CTGAACTACGTCTGGGCCCTGGGCTACAACGTCCTGGGCATGCC
GTCGCGGCCGGCGTCTGTTCCCGTTCACGGGCATCCGGCTTCCC
CCCTGGCTCGCTGGTGCCTGCATGGCCGCATCGTCCGGTGAGCGTC
GTCTGCTCCTCGCTGCTCCTCCAGCTCTACAAGAAGCCCCTGCAC
GTGGAAGACGCGCCAGGCCACGGACGGCTCGGATTTGGTCTGA

BIODATA PENULIS



Ira Puspaningtyas lahir di Nganjuk, pada 29 September 1998. Penulis merupakan anak pertama dari Pasangan Eko Sahujuk dan almh. Anis Rosyidah. Riwayat Pendidikan penulis yaitu RA Darul Muta'alimin, SDN Banaran 1, SMPN 1 Kertosono, SMAN Kertosono. Kemudian melanjutkan kuliah di Departemen Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) Surabaya. Selama

Kuliah Penulis pernah menjadi asisten laboratorium Biokimia, Sistematika Hewan, Genetika serta Tumbuhan dan Mikorhiza. Penulis juga aktif dalam berbagai pelatihan seperti LKMM PraTD, LKMM TD, LKMW TD, PKTI TD dan Pelatihan Bertanam Organik. Pengalaman organisasi yang dimiliki penulis adalah sebagai *Steering committee Creative Team* dalam tim inti *Biological Opus Fair XI* (2018/2019). Penulis juga aktif dalam kepanitiaan BOF selama 3 tahun serta pernah menjadi notulen dalam kepanitiaan BIMTEK Teknologi Inovatif Jeruk dan Buah Subtropika yang diselenggarakan oleh Balai Penelitian Buah Jeruk dan Tanaman Subtropika (Balitjestro) Indonesia. Saat kuliah, penulis melaksanakan kerja praktik di Balitjestro Tlekung, Batu.

