

**ANALISIS EKSPRESI GEN *MTP1* DAN *HMA3* PADA  
BAYAM (*Amaranthus viridis*) DALAM CEKAMAN  
LOGAM BERAT SENG (Zn)**

**SKRIPSI**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-1  
Program Studi Biologi



Disusun oleh :

Sunni Sofiah Aniqah  
15640052

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA  
YOGYAKARTA  
2019**

## **Analisis Ekspresi Gen *MTP1* dan *HMA3* pada Bayam (*Amaranthus viridis*) dalam Cekaman Logam Berat Seng (Zn)**

Sunni Sofiah Aniqah  
15640052

### **Abstrak**

Bayam memiliki banyak manfaat dan sayuran ini sering dikonsumsi masyarakat. Akan tetapi, diketahui bahwa salah satu spesies bayam yaitu *Amaranthus viridis* mempunyai kemampuan akumulasi logam seng (Zn) atau dapat disebut sebagai tumbuhan hiperakumulator. Tingkat pencemaran lingkungan oleh logam berat semakin meningkat dan terdapat potensi perpindahan logam berat dari tumbuhan ke tubuh manusia melalui rantai makanan yang dapat mempengaruhi kesehatan manusia. Maka dari itu mekanisme transportasi dan translokasi logam pada tanaman yang lebih jelas perlu diketahui melalui informasi mendasar tentang protein yang berperan dalam akumulasi logam pada tanaman. Protein transporter yang diduga berperan dalam pengangkutan Zn pada tumbuhan yang dikaji adalah protein yang disandi gen *MTP1* (*Metal Tolerance Protein 1*) dan *HMA3* (*Heavy Metal Associated 3*). Analisis ekspresi gen dapat membuktikan peran gen tersebut pada tumbuhan dalam cekaman logam berat. Pada penelitian ini, isolasi RNA total dilakukan dari sampel daun dan akar tanaman kontrol dan tanaman yang dicekam Zn. Sintesis cDNA dilakukan dan kemudian dijadikan templat pada reaksi *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Reaksi PCR menggunakan primer yang didesain menggunakan templat *consensus sequence* dari spesies dengan kekerabatan yang dekat dengan *Amaranthus viridis*. Visualisasi hasil PCR menunjukkan amplicon dari gen *MTP1* berukuran 79 bp dengan tingkat ekspresi yang sama dari tiap bagian sampel tanaman. Diketahui bahwa konsentrasi Zn tidak berpengaruh terhadap ekspresi gen *MTP1*. Ekspresi gen *HMA3* belum dapat disimpulkan dari penelitian ini karena tidak diperoleh amplicon spesifik. Desain ulang primer yang lebih spesifik terhadap spesies *Amaranthus viridis* perlu dilakukan agar dapat diperoleh amplicon spesifik dan tingkat ekspresi gen dapat diketahui.

**Kata kunci:** *Amaranthus viridis*, ekspresi gen, *Heavy Metal Associated* (HMA), hiperakumulator, *Metal Tolerance Protein* (MTP), *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

## HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN

### SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Sunni Sofiah Aniqah

NIM : 15640052

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya skripsi saya ini adalah asli hasil karya atau penelitian penulis sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuki sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

Yogyakarta, 4 September 2019

Yang menyatakan,



Sunni Sofiah Aniqah

NIM. 15640052

## HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI



Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga



FM-UINSK-BM-05-03/R0

### SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp : -

Kepada  
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta  
di Yogyakarta

*Assalamu'alaikum wr. wb.*

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudari:

Nama : Sunni Sofiah Aniqah  
NIM : 15640052  
Judul Skripsi : Analisis Ekspresi Gen *MTP1* dan *HMA3* pada Bayam  
(*Amaranthus viridis*) dalam Cekaman Logam Berat Seng (Zn)

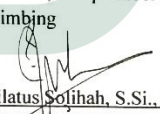
sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudari tersebut di atas dapat segera dimunaqasyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

*Wassalamu'alaikum wr. wb.*

Yogyakarta, 3 September 2019

Pembimbing

  
Jumailatus Solihah, S.Si., M.Biotech  
NIP. 197606242005012007

## HALAMAN PENGESAHAN



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

### PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-4186/Un.02/DST/PP.00.9/09/2019

Tugas Akhir dengan judul : Analisis Ekspresi Gen MTP1 dan HMA3 pada Bayam (*Amaranthus viridis*) dalam Cekaman Logam Berat Seng (Zn)

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : SUNNI SOFIAH ANIQAH  
Nomor Induk Mahasiswa : 15640052  
Telah diujikan pada : Selasa, 10 September 2019  
Nilai ujian Tugas Akhir : A


dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

#### TIM UJIAN TUGAS AKHIR

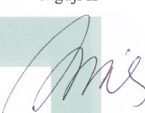
Ketua Sidang

  
Jumailatus Sofiah, S.Si., M.Si.  
NIP. 19760624 200501 2 007

Penguji I

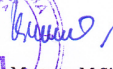
  
Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.  
NIP. 19750515 200003 2 001

Penguji II

  
Siti Aisah, S.Si., M.Si.  
NIP. 19740611 200801 2 009

Yogyakarta, 10 September 2019  
UIN Sunan Kalijaga  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Dekan



  
Dr. Murtoho, M.Si.  
NIP. 19691212 200003 1 001

## HALAMAN MOTTO

*“DETERMINATION is my key to open the HARDWORK door and  
get into my palace of SUCCESS”*

*-Sunni Sofiah Aniqah-*

**“Tekad yang kuat mengalahkan banyak alasan  
dan memunculkan beragam solusi”**

**-Alifmagz-**

karena segala keberhasilan berawal dari niat yang baik dan tekad yang kuat

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Teruntuk Abah dan Ibu serta **semua** yang mengenali penulis, hasil Tugas Akhir ini didedikasikan untuk anda **semua**. Ucapan terima kasih yang tidak terhingga penulis sampaikan atas waktu, dukungan, motivasi, ilmu, bimbingan, dan doa restunya yang sangat berharga dalam menyemangati penulis untuk terus berjuang. Segala bentuk bantuan yang diberikan tidak akan luput dari ingatan penulis. Teriring doa dan harapan penulis untuk **semua** yang telah menjadi bagian dari perjuangan ini, semoga senantiasa dikaruniakan rahmat dan perlindungan dari-Nya.



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah atas rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan untuk Tugas Akhir atau Skripsi ini dengan baik. Kesehatan dan kekuatan yang diberikan dalam menyelesaikan tugas ini merupakan sebagian nikmat-Nya yang tiada tara sebagai tanda kasih sayang pada hamba-Nya. Shalawat serta salam tak lupa dipanjatkan kepada Nabi Muhammad SAW, nabi dan rasul terakhir umat Muslim, serta keluarga dan sahabat beliau yang selalu disisinya.

Penelitian dengan judul *Analisis Ekspresi Gen MTP1 dan HMA3 pada Bayam (Amaranthus viridis) dalam Cekaman Logam Berat Seng (Zn)* ini telah terlaksana dengan lancar atas bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Untuk itu, ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

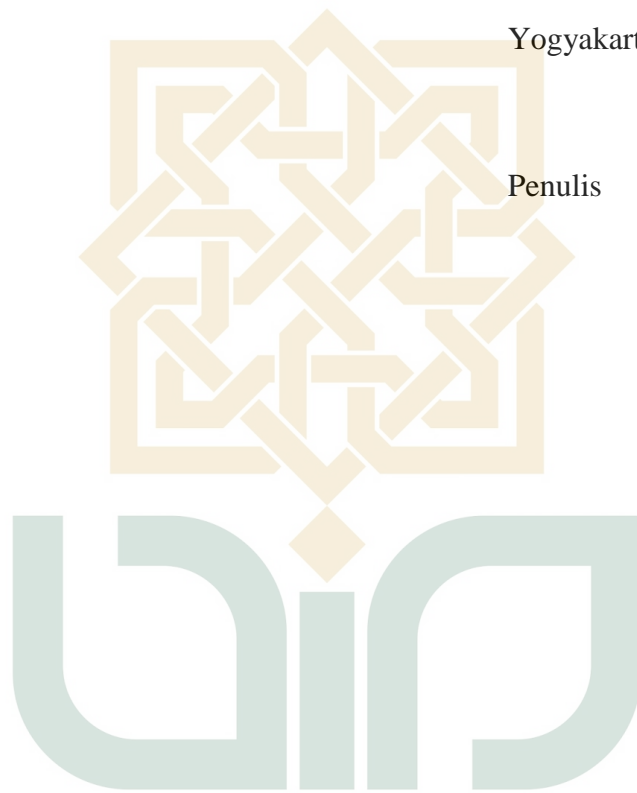
1. Bapak Dr Murtono, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga
2. Ibu Erny Qurotul Ainy, S.Si., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga
3. Ibu Dr. Isma Kurniatanty, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penasehat Akademik
4. Ibu Jumailatus Solihah, S.Si., M.Biotech., Dosen Pembimbing Skripsi yang telah memberi bimbingan sejak awal perencanaan penelitian hingga selesai penulisan laporan penelitian
5. Seluruh Dosen Biologi UIN Sunan Kalijaga atas ilmu yang sangat bermanfaat untuk penelitian
6. Jajaran Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) selaku pendamping dan konsultan penelitian
7. Rekan-rekan peneliti atas waktu yang diluangkan untuk diskusi dan berbagi ilmu



Semoga tulisan ini bersama ilmu yang telah dipelajari dapat memberi manfaat pada para akademisi, masyarakat, maupun negara kedepannya. Penulis berharap saran dan kritik yang membangun dapat disampaikan untuk tulisan yang belum cukup sempurna ini. Akhir kata, semoga kita semua senantiasa diberi kemudahan dan keberkahan dalam menuntut ilmu yang bermanfaat.

Yogyakarta, September 2019

Penulis



## DAFTAR ISI

|  |      |
|--|------|
| ABSTRAK .....                                | ii   |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN .....            | iii  |
| HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI.....             | iv   |
| HALAMAN PENGESAHAN.....                      | v    |
| HALAMAN MOTTO .....                          | vi   |
| HALAMAN PERSEMBAHAN .....                    | vii  |
| KATA PENGANTAR .....                         | viii |
| DAFTAR ISI.....                              | x    |
| DAFTAR TABEL.....                            | xi   |
| DAFTAR GAMBAR .....                          | xii  |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                         | xiii |
| BAB I PENDAHULUAN .....                      | 1    |
| A. Latar Belakang .....                      | 1    |
| B. Rumusan Masalah .....                     | 5    |
| C. Tujuan.....                               | 6    |
| D. Manfaat Penelitian.....                   | 6    |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....                 | 7    |
| A. <i>Amaranthus viridis</i> .....           | 7    |
| B. Seng (Zn).....                            | 11   |
| C. Tumbuhan Hiperakumulator .....            | 15   |
| D. Gen Transporter.....                      | 17   |
| BAB III METODE PENELITIAN.....               | 21   |
| A. Waktu dan Tempat Penelitian .....         | 21   |
| B. Alat dan Bahan .....                      | 21   |
| C. Prosedur Kerja.....                       | 22   |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....            | 31   |
| A. Uji Pendahuluan .....                     | 31   |
| B. Uji Lanjutan.....                         | 32   |
| C. Isolasi RNA Total dan Sintesis cDNA ..... | 39   |
| D. Desain Primer.....                        | 41   |
| E. Ekspresi Gen Penyandi Transporter Zn..... | 42   |
| BAB V PENUTUP.....                           | 46   |
| DAFTAR PUSTAKA .....                         | 48   |
| LAMPIRAN.....                                | 52   |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 1. Kandungan nutrisi bayam <i>Amaranthus viridis</i> .....                                 | 11 |
| Tabel 2. Berat $ZnCl_2$ yang ditimbang untuk pembuatan tiap konsentrasi Zn uji pendahuluan ..... | 23 |
| Tabel 3. Berat $ZnCl_2$ yang ditimbang untuk pembuatan tiap konsentrasi Zn uji lanjutan.....     | 24 |
| Tabel 4. Volume reagen sintesis cDNA .....   | 27 |
| Tabel 5. Volume reagen PCR.....  | 28 |
| Tabel 6. Tahapan dan kondisi reaksi RT-PCR.....  | 28 |
| Tabel 7. Sampel tanaman pada uji lanjutan dan konsentrasi perlakuan Zn .....                     | 33 |
| Tabel 8. Gejala abnormalitas yang terlihat pada daun tanaman.....                                | 34 |
| Tabel 9. Nilai pH tanah .....  | 36 |
| Tabel 10. Hasil analisis kadar Zn dalam tanah .....  | 38 |
| Tabel 11. Hasil spektrofotometri RNA total.....  | 39 |
| Tabel 12. Sekuens dan keterangan primer .....  | 42 |

## DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1. Morfologi bayam *Amaranthus viridis* ..... 9
- Gambar 2. Letak sumuran dan sampel hasil RT-PCR pada gel elektroforesis ..... 29
- Gambar 3. Hasil elektroforesis amplifikasi gen *MTP1* dan *HMA3* ..... 43



## DAFTAR LAMPIRAN

|   |    |
|---|----|
| Lampiran 1. Dokumentasi bayam <i>Amaranthus viridis</i> yang tumbuh secara liar dimana pengambilan biji dilakukan untuk penelitian .....                    | 52 |
| Lampiran 2. Dokumentasi uji pendahuluan .....   | 52 |
| Lampiran 3. Hasil pengamatan morfologi tanaman bayam pada uji lanjutan.....   | 53 |
| Lampiran 4. Hasil Analisis <i>One Way</i> ANOVA .....   | 54 |
| Lampiran 5. Dokumentasi penelitian uji lanjutan .....   | 59 |
| Lampiran 6. Visualisasi elektroforesis hasil isolasi RNA total.....   | 62 |
| Lampiran 7. Sekuens templat <i>consensus sequence</i> gen <i>MTP1</i> dan <i>HMA3</i> serta situs penempelan primer <i>Forward</i> dan <i>Reverse</i> ..... | 62 |
| Lampiran 8. Hasil desain primer menggunakan Primer-BLAST.....   | 64 |
| Lampiran 9. Hasil pemesanan primer .....  | 65 |
| Lampiran 10. Hasil perhitungan ulang $T_m$ primer.....  | 67 |
| Lampiran 11. Perhitungan ukuran ampikon.....  | 68 |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Manusia membutuhkan energi dan gizi untuk kelangsungan hidup dan kesehatan yang baik. Energi dan gizi tersebut diperoleh dari makanan yang dapat bersumberkan hewan maupun tumbuhan. Salah satu jenis makanan yang menjadi sumber utama makanan sehari-hari manusia adalah sayuran. Sayuran yang dapat dikonsumsi sangat bervariasi, salah satunya adalah bayam yaitu sayuran yang sangat umum di Indonesia. Maulana dan Sakaya (2007) dalam Andini *et al.* (2013) menuliskan bahwa bayam adalah sayuran ketiga yang paling banyak dikonsumsi masyarakat setelah kangkung (*Ipomoea aquatica*) dan daun singkong (*Manihot esculenta*).

Masyarakat menggemari bayam karena keistimewaan dan ketersediaannya di lingkungan. Beberapa kelebihan bayam diantaranya memiliki kandungan gizi yang bermanfaat, tumbuh dengan cepat, resisten terhadap kekeringan, dan mudah beradaptasi di lingkungan baru (Grubben, 1994 dalam Rahayu *et al.*, 2013; Norman, 1992 dalam Akin-Idowu *et al.*, 2016). Alegbejo (2013) menuliskan bahwa bayam dapat dikonsumsi sebagai bahan makanan atau minuman herbal baik dari bagian biji, daun, batang lembut, maupun akar.

Bayam terdiri dari berbagai variasi yaitu bayam sayuran, gulma, dan hiasan. Berdasarkan artikel Andini *et al.* (2013), pemanfaatan bayam sebagai sayuran, gulma, atau hiasan bergantung pada kebiasaan di suatu daerah. Sebagai contoh, masyarakat lokal di wilayah Takengon Sumatra menggunakan beberapa

jenis bayam gulma yang mirip dengan jenis bayam sayur sebagai makanan maupun obat tradisional.

Akan tetapi, tumbuhan famili *Amaranthaceae* diketahui memiliki kemampuan hiperakumulasi (Reeves & Baker, 2000 *dalam* Sakthidharan, 2013). Tumbuhan yang disebut sebagai hiperakumulator ini dapat toleran terhadap konsentrasi logam berat yang tinggi. Jenis tumbuhan ini dapat mengakumulasi logam hingga konsentrasi 100 kali lebih tinggi dari tumbuhan normal dan tidak mengalami keracunan. Selain itu, akumulasi logam tersebut tidak mempengaruhi pertumbuhan dan produksi tumbuhan (Hidayati, 2013).

Terdapat beberapa penelitian yang membuktikan kemampuan spesies *Amaranthus* sp. dalam mengakumulasi berbagai jenis logam berat. Salah satunya adalah *Amaranthus viridis* yang diketahui dapat mengakumulasi logam seng (Zn) pada konsentrasi yang tinggi (Nazir *et al.*, 2011; Olayinka *et al.*, 2011; Fryzova *et al.*, 2017). Spesies ini merupakan salah satu spesies bayam gulma yang dimanfaatkan sebagai sayuran karena kandungan proteinnya yang tinggi serta jumlah daunnya yang banyak (Andini *et al.*, 2013).

Seng yang terdapat di lingkungan bersumberkan dari berbagai aktivitas manusia dalam bidang agrikultur maupun kegiatan industri (Gremion, 2003 *dalam* Taouil *et al.*, 2014). Menurut draf dari *US Department of Health and Human Service: A Toxicological Profile for Zinc* (2005), keberadaan seng di lingkungan yaitu di udara, air, dan tanah berkaitan dengan kegiatan pertambangan, pembuangan limbah industri, penggunaan pupuk komersial, dan bahan berbasis pengawet. Emisi atau pembuangan seng dari berbagai kegiatan manusia ini dapat

berakhir di tanah dan menjadikan tanah sebagai sumber terbesar logam berat tersebut di lingkungan karena sifat seng yang tidak volatil.

Penelitian Andarani dan Roosmini (2010) *dalam* Erfandi dan Juarsah (2014) menemukan konsentrasi seng yang lebih tinggi di endapan air sungai dibandingkan konsentrasi seng di air sungai. Sungai yang dikaji adalah Daerah Aliran Sungai (DAS) Cikijing, Majalengka yang berada di tengah pabrik-pabrik tekstil di lokasi terkait. Selain itu, terdapat laporan bahwa beberapa lokasi di Teluk Jakarta mengandung logam berat pada konsentrasi yang tinggi hingga mencapai ambang batas (Lestari & Edward, 2004 *dalam* Erfandi & Juarsah, 2014). Air di satu kawasan bekas tambang timah di Bangka diketahui mengandung logam berat termasuk seng yang melebihi kadar maksimal logam dalam air bersih (Henny & Susanti, 2009 *dalam* Erfandi & Juarsah, 2014). Selain itu lahan sawah di Rancaekek, Bandung yang tercemar limbah industri tekstil diketahui mengandung logam berat seperti seng. Konsentrasi logam ini dapat bertambah, hal ini diduga karena tanah sawah mengalami perubahan kondisi reduksi dan oksidasi pada saat pengolahan lahan lalu membentuk banyak logam di tanah (Kurnia *et al.*, 2004 *dalam* Erfandi & Juarsah, 2014).

Melihat banyaknya penemuan penelitian seperti yang telah disebutkan, tiap lahan berpotensi untuk mengalami pencemaran oleh logam berat. Keberadaan logam berat seng di tanah yang melebihi batas normal dan kemampuan akumulasi logam pada *Amaranthus viridis* menimbulkan kekhawatiran terutama pada kesehatan manusia. Hal ini karena seng merupakan salah satu logam berat yang



memiliki potensi bersifat toksik pada konsentrasi yang melebihi batas normal (Olayinka *et al.*, 2011).

Logam berat dapat terakumulasi di tanaman lalu berpindah ke manusia melalui rantai makanan dan menyebabkan masalah kesehatan (Olayinka *et al.*, 2011). Menurut Rajeswari dan Sailaja (2014), masuknya logam berat melalui tumbuhan yang dikonsumsi dapat menyebabkan efek negatif jangka panjang pada kesehatan manusia. Seng memiliki mobilitas yang tinggi dari akar ke pucuk tanaman dimana konsentrasi seng di bagian pucuk tanaman lebih tinggi dari yang di akar (Nazir, *et al.*, 2011). Mengingat *Amarathus viridis* dikonsumsi masyarakat terutama bagian daunnya, maka permasalahan ini perlu diperhatikan.

Tumbuhan hiperakumulator memiliki kemampuan yang berbeda dari tumbuhan normal disebabkan adanya ekspresi gen-gen yang berperan dalam penyerapan, akumulasi, dan toleransi tanaman terhadap logam (Ulfah & Dewi, 2015). Gen transporter yang berperan dalam akumulasi logam antara lain *MTP1* dan *HMA3*. Gen *MTP1* dan *HMA3* menyandi protein yang disebut sebagai *vacuolar membrane protein* (Mortel *et al.*, 2006 dalam Sinclair & Krämer, 2012). Kedua gen tersebut berfungsi dalam proses sekuestrasi seng di vakuola hingga daun tumbuhan dapat toleran terhadap logam berat Zn (Marquès & Oomen, 2011). Vakuola merupakan bagian sel yang menyimpan seng pada kadar yang paling tinggi di daun tumbuhan (Sinclair & Krämer, 2012).

Analisis ekspresi gen dilakukan dari bagian daun karena bagian tersebut merupakan bagian tanaman bayam yang paling sering dikonsumsi dibandingkan dengan bagian batang yang jarang dikonsumsi karena dianggap keras. Selain itu,

gen *MTP1* dan *HMA3* diketahui terekspresi di bagian daun tanaman (Verbruggen *et al.*, 2009).

Bagian akar tanaman digunakan dalam analisis ini untuk dibandingkan dengan bagian daun dalam melihat kemampuan tanaman dalam mengakumulasi logam seng dengan peran kedua gen yang digunakan. Tingkat ekspresi gen transporter logam yang tinggi pada daun mengindikasikan kemampuan tanaman yang baik dalam memindahkan logam berat dari akar hingga ke bagian pucuk tanaman disebabkan translokasi jarak jauh yang efisien. Sekuestrasi logam berat yang baik pada bagian daun tanaman mengindikasikan tanaman tersebut memiliki ciri tumbuhan hiperakumulator. Hal ini berbeda dari ciri tumbuhan non-hiperakumulator yang umumnya mensekuestrasi logam berat hanya pada bagian akar (Sharma *et al.*, 2016).

Berdasarkan kemampuan daun tanaman dalam mengakumulasi logam berat Zn dan fungsi tiap gen yang telah disebutkan, gen-gen ini diduga terdapat pada bagian daun *Amaranthus viridis* dan berperan dalam mengendalikan akumulasi logam berat seng pada bagian tersebut. Maka dari itu analisis ekspresi gen *MTP1* dan *HMA3* pada tanaman bayam dalam cekaman logam berat seng dilakukan untuk mencapai tujuan penelitian ini.

## **B. Rumusan Masalah**

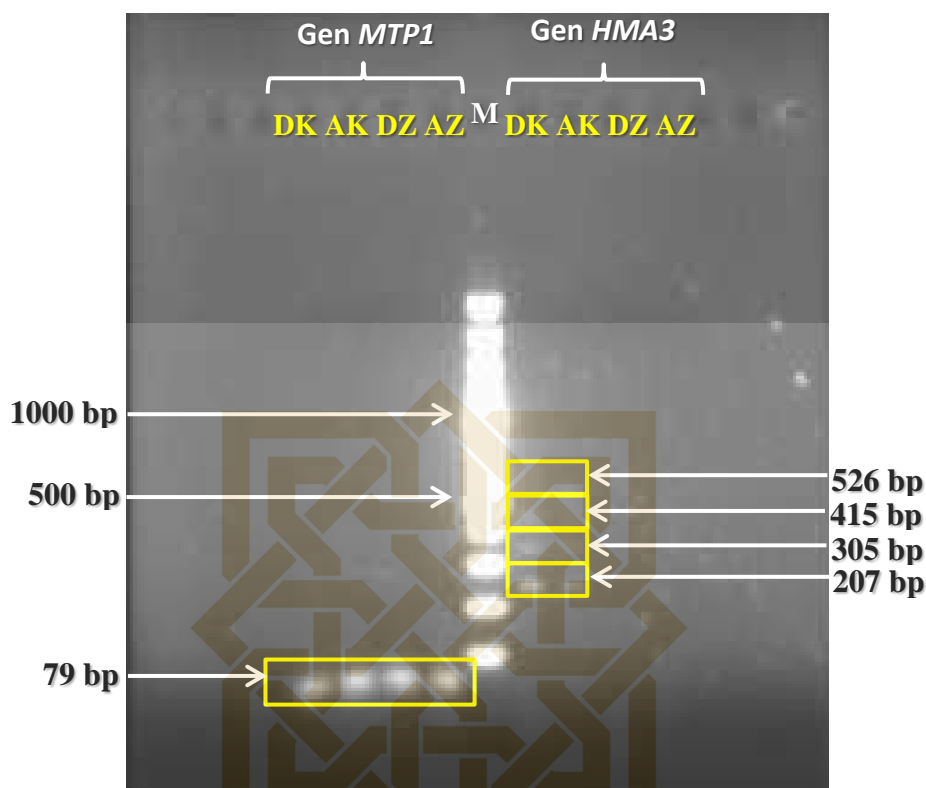
Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan sebelumnya, rumusan masalah yang diajukan pada penelitian ini adalah bagaimana ekspresi gen *MTP1* dan *HMA3* pada daun dan akar bayam *Amaranthus viridis* dalam cekaman logam berat seng.

### **C. Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ekspresi gen *MTP1* dan *HMA3* pada daun dan akar bayam *Amaranthus viridis* dalam cekaman logam berat seng.

### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil yang didapatkan dari penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi mendasar tentang potensi *Amaranthus viridis* sebagai akumulator logam berat seng. Selain itu, informasi ekspresi gen yang diperoleh dapat menyumbang informasi untuk penelitian lanjut sehingga mekanisme transportasi dan translokasi seng pada tanaman *Amaranthus viridis* dapat dikaji lebih lanjut. Penemuan-penemuan baru yang didapatkan dapat dijadikan pertimbangan dalam pemanfaatan tanaman ini sebagai bahan makanan secara selektif agar tidak mempengaruhi kesehatan.



Gambar 3. Hasil elektroforesis amplifikasi gen *MTP1* dan *HMA3*. Keterangan: M = DNA Marker, DK= Sampel daun tanaman kontrol, AK = Sampel akar tanaman kontrol, DZ = Sampel daun tanaman dengan perlakuan Zn, AZ = Sampel akar tanaman dengan perlakuan Zn

Ekspresi gen *MTP1* mengindikasikan bahwa gen ini merupakan salah satu gen yang berfungsi dalam pengangkutan Zn pada bagian tanaman yang dikaji yaitu daun dan akar. Akan tetapi, panjang basa pita amplicon gen *MTP1* yang diperoleh berbeda dari panjang basa sekuens yang ditargetkan yaitu 1.000 bp. Hal ini karena sekuens templat yang digunakan dalam desain primer adalah *consensus sequence* dari spesies lain dalam famili yang sama dengan spesies yang dikaji pada penelitian ini. Daerah yang teramplifikasi dapat berbeda karena adanya variasi genetik antara spesies khususnya pada urutan dan panjang basa sekuens gen *MTP1*.

Variasi genetik ini menyebabkan daerah amplifikasi antara dua situs penempelan primer lebih pendek pada spesies yang dikaji berbanding daerah amplifikasi pada *consensus sequence*. Hal ini dapat dibuktikan melalui tahapan sekuensing DNA dimana sekuens yaitu urutan basa nukleotida bagian gen yang teramplifikasi dapat diketahui lalu dapat dijajarkan dengan sekuens templat *consensus sequence* dan primer.

Selanjutnya, amplifikasi gen *HMA3* gagal menghasilkan amplicon khusus dari gen terkait. Terdapat empat amplicon yang muncul dari sampel DK dan AK yaitu pita amplicon dengan panjang basa 207, 305, 415, dan 526 bp sedangkan tidak ada amplicon yang muncul dari sampel DZ dan AZ. Pita amplicon dengan ukuran 207, 305, dan 415 bp mempunyai ketebalan dan kejelasan yang seragam baik antara sampel maupun panjang basa yang berbeda. Namun pita amplicon yang berukuran 526 bp lebih tipis dan tampaknya lebih tidak jelas berbanding pita amplicon yang lain.

Kegagalan amplifikasi daerah gen target *HMA3* diduga disebabkan primer yang tidak spesifik terhadap sekuens templat yang digunakan. Variasi genetik antara sekuens templat *consensus sequence* dan sekuens spesies yang dikaji dapat menyebabkan permasalahan ini (Kirby, 1992). Hal ini menyebabkan primer menempel pada daerah-daerah pada templat yang tidak spesifik dengan berbagai kemungkinan situasi. Salah satu contoh kemungkinan situasi *mispriming* adalah dimana bagian ujung 3' primer yang tidak menempel sepenuhnya pada target lalu menghambat proses elongasi (Chen & Janes, 2002).

Selain itu menurut Moss (2001) munculnya beberapa pita pada gel elektroforesis adalah disebabkan *mispriming* pada suhu annealing yang digunakan. Jika semua kriteria yang mencakup konsentrasi bahan dan kondisi amplifikasi dianggap sudah optimal, tinjauan ulang terhadap komposisi primer perlu dilakukan dan desain ulang primer yang lebih spesifik juga perlu dilakukan (Chen & Janes, 2002; Bartlett *et al.*, 2003).



## BAB V

### PENUTUP

#### A. Kesimpulan

Ekspresi gen *MTP1* dapat dilihat berdasarkan munculnya pita amplikon dengan ukuran 79 bp dari hasil amplifikasi menggunakan primer gen *MTP1*. Gen *MTP1* diekspresikan pada bagian daun dan akar bayam *Amaranthus viridis* baik pada tanaman kontrol maupun tanaman yang diberi perlakuan Zn. Gen tersebut terekspresi dengan tingkat yang sama dan tidak dipengaruhi oleh konsentrasi Zn dalam tanah. Ekspresi gen *HMA3* belum dapat disimpulkan karena permasalahan spesifisitas primer yang belum dapat menghasilkan amplikon gen yang spesifik.

#### B. Saran

Optimasi PCR yang menyeluruh dan lebih mendetail perlu dilakukan untuk kedua primer gen *MTP1* dan *HMA3* khususnya berkaitan spesifisitas primer agar dapat memperoleh hasil yang lebih baik. Namun keterbatasan database sekuens gen *MTP1* dan *HMA3* serta genom khususnya pada spesies *Amaranthus viridis* perlu diatasi terlebih dahulu. Sekuensing dan penyeteroran database tersebut dapat membantu menambah informasi terkait urutan dan panjang basa gen sehingga desain primer yang lebih spesifik dapat dilakukan dan ekspresi gen dapat diketahui. Selanjutnya, ekspresi gen *MTP1* dan *HMA3* dapat dikaji pada spesies tanaman pangan yang lain mengingat terdapat banyak tanaman sayuran yang mempunyai kemampuan mengakumulasi logam berat. Selain itu, terdapat banyak

gen transporter lain yang berfungsi dalam toleransi tumbuhan terhadap logam berat yang dapat dikaji dengan metode yang sama.





## DAFTAR PUSTAKA

- Achigan-Dako, E. G., Sogbohossou, O. E. D., & Maundu, P. (2014). Current Knowledge on *Amaranthus* spp.: Research Avenues for Improved Nutritional Value and Yield in Leafy Amaranths in Sub-Saharan Africa. *Euphytica*, 197(3), 303–317.
- Akin-idowu, P. E., Gbadegesin, M. A., Orkpeh, U., Ibitoye, D. O., & Odunola, O. A. (2016). Characterization of Grain Amaranth (*Amaranthus* spp.) Germplasm in South West Nigeria Using Morphological, Nutritional, and Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis. *Resources*, 5(6), 1–15.
- Alegbejo, J. O. (2013). Nutritional Value and Utilization of Amaranthus (*Amaranthus* spp.) – A Review. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 6(1), 136–143.
- Alege, G. O., & Daudu, S. M. (2014). A Comparative Foliar Epidermal and Morphological Study of Five Species of The Genus *Amaranthus*. *European Journal of Experimental Biology*, 4(4), 1–8.
- Amaranthus viridis*. Diakses 10 Januari 2019, dari Website International Environmental Weed Foundation, Australi: [http://www.iewf.org/weedid/Amaranthus\\_viridis.htm](http://www.iewf.org/weedid/Amaranthus_viridis.htm).
- Amaranthus viridis* L. Diakses 10 Agustus 2019, dari Website Global Biodiversity Information Facility, Denmark, GBIF Secretariat: <https://www.gbif.org/species/5384334>.
- Amaranthus viridis* L. Diakses 10 Januari 2019, dari Website Lucid Key Server, Australi, Lucid Central: <https://keyserver.lucidcentral.org/key-server/keys.jsp>.
- Andini, R., Yoshida, S., Yoshida, Y., & Ohsawa, R. (2013). Amaranthus Genetic Resources in Indonesia : Morphological and Protein Content Assessment in Comparison with Worldwide Amaranths. *Genet Resour Crop Evol*, 60, 2115–2128.
- Atayese, M. O., Eigbadon, A. I., Oluwa, K. A., & Adesodun, J. K. (2009). Heavy Metal Contamination of Amaranthus Grown along Major Highways in Lagos, Nigeria. *African Crop Science Journal*, 16(4), 225–235.
- Bartlett, J. M. S., & Stirling, D. (Ed.). (2003). *PCR Protocols* (2nd ed.). England: Humana Press.
- Bashir, K., Rasheed, S., Kobayashi, T., Seki, M., & Clemens, S. (2016). Regulating Subcellular Metal Homeostasis : The Key to Crop Improvement.

- Frontiers in Plant Science*, 7(1192), 1–9.
- Beede, R. H., Brown, P. H., Kallsen, C., & Weinbaum, S. A. (2005). Diagnosing and Correcting Nutrient Deficiencies. Dalam *Pistachio Production Manual* (Halaman 147–157). Diakses 16 Agustus 2019, dari <http://fruitsandnuts.ucdavis.edu/files/73696.pdf>.
- BIO-RAD. (2001). SmartSpec™ 3000 Spectrophotometer Instruction Manual. Diakses 15 Agustus 2019 dari Website BIO-RAD: <https://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/4006168D.pdf>.
- Blindauer, C. A., & Schmid, R. (2010). Cytosolic Metal Handling in Plants : Determinants for Zinc Specificity in Metal Transporters and Metallothioneins. *Metallomics*, 2, 510–529.
- Chen, B.-Y., & Janes, H. W. (Ed.). (2002). *PCR Cloning Protocols* (2nd ed.). New Jersey: Humana Press.
- Chomczynski, P., & Sacchi, N. (2006). The Single-Step Method of RNA Isolation by Acid Guanidinium Thiocyanate – Phenol – Chloroform Extraction : Twenty-Something Years On. *Nature Protocols*, 1(2), 581–585.
- Coninx, L. (2013). Investigating the Zinc Homeostasis Network in *Suillus luteus* : Zinc Transporters. [Tesis]. Belgium: Hasselt University.
- Darbre, P.D. (2001). *Basic Molecular Biology Essential Techniques*. United Kingdom: John Wiley & Sons.
- Ebert, A. W., Wu, T., & Wang, S. (2011, November). *Vegetable Amaranth (Amaranthus)*. Diakses 1 Maret, 2019, dari [http://203.64.245.61/web\\_crops/indigenous/cooperators%20guide\\_amaranth\\_s\\_web.pdf](http://203.64.245.61/web_crops/indigenous/cooperators%20guide_amaranth_s_web.pdf).
- Eid, E. M., & Shaltout, K. H. (2016). Bioaccumulation and Translocation of Heavy Metals by Nine Native Plant Species Grown at A Sewage Sludge Dump Site. *International Journal of Phytoremediation*, 18 (11), 1–49.
- Environmental Health Criteria fo Zinc*. Diakses 20 Agustus dari Web site Internationally Peer Reviewed Chemical Safety Information: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc221.htm#4.1.3>.
- Erfandi, D., & Juarsah, I. (2014). Teknologi Pengendalian Pencemaran Logam Berat pada Lahan Pertanian. Dalam *Konservasi Tanah Menghadapi Perubahan Iklim* (Bab 7). Diakses 22 April 2018, dari <http://balittanah.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php/en/berita-terbaru-topmenu-58/890-logam>.
- Fryzova, R., Pohanka, M., Martinkova, P., Cihlarova, H., Brtnicky, M., Hladky, J., & Kynicky, J. (2017). Oxidative Stress and Heavy Metals in Plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 1–28.
- Hidayati, N. (2013). Mekanisme Fisiologis Tumbuhan Hiperakumulator Logam Berat. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 14(2), 75–82.
- Ifelola, E., & Alaba, O. (2014). Investigation of Edaphic Variability and Properties for Suitability of Post- Bitumen Mining Reclamation Work. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences*, 5(2), 99–104.
- Irsyad, M., Sikanna, R., & Musafira. (2014). Translokasi Merkuri (Hg) pada Daun Tanaman Bayam Duri (*Amaranthus spinosus* L) dari Tanah Tercemar.

*Online Journal of Natural Science*, 3(1), 8–17.

- Khan, M., Musharaf, S., Ibrar, M., & Hussain, F. (2011). Pharmacognostic Evaluation of The *Amaranthus viridis* L. *Research In Pharmaceutical Biotechnology*, 3(1), 11–16.
- Kirby, L.T. (1992), *DNA Fingerprinting An Introduction*. United States of America: W.H. Freeman and Company.
- Kobae, Y., Uemura, T., Sato, M. H., Ohnishi, M., Mimura, T., Nakagawa, T., & Masayoshi, M. (2004). Zinc Transporter of Arabidopsis thaliana AtMTP1 is Localized to Vacuolar Membranes and Implicated in Zinc Homeostasis. *Plant Cell Physiology*, 45(12), 1749–1758.
- Krishna, T. P. A., Ceasar, S. A., Maharajan, T., Ramakrishnan, M., Duraipandiyar, V., Al-Dhabi, N. A., & Ignacimuthu, S. (2017). Improving the Zinc-Use Efficiency in Plants : A Review. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics*, 49(3), 211–230.
- Laksono, K. D., Nasahi, C., & Padjadjaran, U. (2010). Inventarisasi Penyakit pada Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) pada Tiga Daerah di Jawa Barat. *Jurnal Agrikultura*, 21(1), 31–38.
- Marque` s, L., & Oomen, R. J. F. J. (2011). On The Way to Unravel Zinc Hyperaccumulation in Plants : A Mini Review. *Metallomics*, 3, 1265–1270.
- McCauley, A., Jones, C., & Jacobsen, J. (2011). Plant Nutrient Functions and Deficiency and Toxicity Symptoms. Dalam *Nutrient Management* (Bab 9). Diakses 8 Agustus 2019, dari <http://landresources.montana.edu/nm/documents/NM9.pdf>.
- McCauley, A., Jones, C., & Olson-Rutz, K. (2017). Soil and pH Organic Matter. Dalam *Nutrient Management* (Bab 8). Diakses 18 Agustus 2019, dari <https://pdfs.semanticscholar.org/7501/ac8777b94f333a50a0497f60e809950a14f2.pdf>.
- Mirshekali, H., Hadi, H., Amirnia, R., & Khodaverdiloo, H. (2012). Effect of Zinc Toxicity on Plant Productivity, Chlorophyll and Zn Contents of Sorghum (*Sorghum Bicolor*) and Common Lambsquarter (*Chenopodium Album*). *International Journal of Agriculture: Research and Review*, 2(3), 247–254.
- Moss, T. (Ed.). (2001). *DNA – Protein Interactions Principles and Protocols* (2nd ed.). New Jersey: Humana Press.
- Nazir, A., Malik, R. N., Ajaib, M., Khan, N., & Siddiqui, M. F. (2011). Hyperaccumulators of Heavy Metals of Industrial Areas of Islamabad and Rawalpindi. *Pakistan Journal of Botany*, 43(4), 1925–1933.
- Natural Resources Conservation Service. (1998). *Soil Quality Information Sheet*. Diakses 18 Agustus 2019 dari Website Natural Resources Conservation Service: [https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/nrcs142p2\\_052208.pdf](https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs142p2_052208.pdf).
- Nriagu, J. (2011). Zinc Toxicity in Humans. Elsevier Publication. *Encyclopedia of Environmental Health*, 801-807.
- O’Connell, J. (Ed.). (2002). *RT-PCR Protocols*. New Jersey: Humana Press.
- Olayinka, K. O., Oyeyiola, A. O., Odujibe, F. O., & Oboh, B. (2011). Uptake of

- Potentially Toxic Metals by Vegetable Plants Grown on Contaminated Soil and Their Potential Bioavailability Using Sequential Extraction. *Journal of Soil Science and Environmental Management*, 2(8), 220–227.
- Rahayu, S. T., Asgar, A., Hidayat, I. M., Kusmana, & Djuariah, D. (2013). Evaluasi Kualitas Beberapa Genotipe Bayam ( *Amaranthus Sp* ) pada Penanaman di Jawa Barat. *Berita Biologi*, 12(2), 153–160.
- Rajeswari, T. R., & Sailaja, N. (2014). Impact of Heavy Metals on Environmental Pollution. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, (3), 175–181.
- Rascio, N., & Navari-izzo, F. (2011). Heavy Metal Hyperaccumulating Plants : How and Why Do They Do It? And What Makes Them So Interesting? *Plant Science*, 180, 169–181.
- Rout, G., & Das, P. (2003). Effect of Metal Toxicity on Plant Growth and Metabolism : I. Zinc. *Agronomie*, 23(1), 3–11.
- Sakthidharan, A. (2013). *Iron and Zinc Fortification In Amaranthus ( Amaranthus Tricolor ) Through Bioaugmentation*. [Tesis]. India: Kerala Agricultural University.
- Schooley, J. (1997). *Introduction to Botany*. New York: Delmar Publishers.
- U.S. Department of Health and Human Services (2005). *Toxicological Profile for Zinc*. Atlanta, Georgia: Author.
- Sharma, S. S., Dietz, K., & Mimura, T. (2016). Vacuolar Compartmentalization as Indispensable Component of Heavy Metal Detoxification in Plants. *Plant, Cell And Environment*, 39, 1112–1126.
- Sinclair, Scott, A., & Krämer, U. (2012). The zinc Homeostasis Network Of Land Plants. *Biochimica et Biophysica Acta Journal*, 1823, 1553–1567.
- Sumartini, & Rahayu, M. (2017). Penyakit Embun Tepung dan Cara Pengendaliannya pada Tanaman Kedelai dan Kacang Hijau. *Jurnal Litbang Pertanian*, 36(2), 59–66.
- Taouil, H., Ahmed, S. I., Assyry, A. El, Hajjaji, N., & Srhiri, A. (2014). Evaluation of metal pollution : Aluminum , Zinc , Iron and Copper of Tiykomyne well water ( East Morocco ). *J. Mater. Environ. Sci*, 5(1), 177–182.
- Ulfah, M., & Dewi, E. R. S. (2015). Evaluasi Fitoremediasi Pencemaran Logam Berat di Tanah TPA. *Seminar Nasional Hasil Penelitian (Snhp-V) Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas PGRI Semarang*, 506-517.
- Verbruggen, N., Hermans, C., & Schat, H. (2009). Molecular Mechanisms of Metal Hyperaccumulation in Plants. *New Phytologist*, 181, 759–776.
- Zaal, B. J. Van Der, Neuteboom, L. W., Pinas, J. E., Chardonens, A. N., Schat, H., Verkleij, J. A. C., & Hooykaas, P. J. J. (1999). Overexpression of a Novel Arabidopsis Gene Related to Putative Zinc-Transporter Genes from Animals Can Lead to Enhanced Zinc Resistance and Accumulation. *Plant Physiology*, 119, 1047–1055.