

Analysis of Genetic Profiles of Heavy Metal Phytoremediator Plants From Gold Mining Areas

Sih Winarti¹, Liswara Neneng¹, Yohanes Edy Gunawan¹ Chaidir Adam¹

Program Studi Magister Pendidikan Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Palangka Raya, Kota Palangka Raya^{1*}

e-mail: liswaraneneng@fkip.upr.ac.id

Abstract. The resistance and survival ability of phytoremediator plants in a polluted environment is thought to be a form of genetic adaptation. This research aimed: (1) to identify the dominant plant species in ex-gold mining area; (2) to analyze the genetic profile of phytoremediator plants from ex-gold mining area; and (3) to compare the genetic profile of heavy metal phytoremediator plants from ex-gold mining area with the same plant species from the non-mining area. The samples of this study were *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., and *Melastoma* sp. The research procedures carried out include sample collection, DNA isolation, DNA amplification with PCR, and DNA visualization with electrophoresis. The results show that the dominant plant species of ex-gold mining area are *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., and *Melastoma* sp. The genetic profile analysis of dominant plant species of ex-gold mining area shows that no DNA bands appeared from the target gene as the result of amplification using specific primers of Metallothionein gene. The result of RAPD analysis using OPA-04 universal primers show that at 500-750 bp there are differences in DNA bands that appeared between the samples. DNA bands that appeared in the genetic profile of phytoremediator plants are thought to be the representation of the gene that responsible for heavy metals tolerance.

Key Words: Genetic Profile, Phytoremediator, Phytoremediation, Bioremediation, Heavy Metal, PCR



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2020 by author

1. Pendahuluan

Areal bekas tambang merupakan areal yang sangat tercemar oleh limbah logam berat. Limbah logam berat dalam konsentrasi yang tinggi dapat bersifat toksik bagi tumbuhan, meskipun tumbuhan membutuhkan logam berat tertentu untuk pertumbuhannya, seperti Co, Cu, Fe, Mn, Ni, V dan Zn. Logam dapat berpengaruh negatif bagi tumbuhan saat konsentrasi yang diakumulasi melebihi batas optimal. Konsentrasi logam yang tinggi dapat menghambat kerja enzim-enzim metabolik di sitoplasma dan merusak struktur sel karena stress oksidatif. Logam berat juga menghambat atau menurunkan aktivitas mikroorganisme tanah dalam mendekomposisi zat organik dan dapat menurunkan nutrisi dalam tanah yang dibutuhkan oleh tumbuhan (Chibuike & Obiora, 2014).

Logam berat yang mencemari lingkungan memang berpengaruh negatif terhadap kelangsungan hidup tumbuhan baik secara langsung ataupun tidak langsung. Namun,

ada beberapa jenis tumbuhan yang toleran terhadap logam berat, seperti *Nephrolepis cardifolia*, *Hypolepsis muelleri* dan *Pteris vittata*. Menurut Kachenko *et al.* (2007), ketiga spesies tumbuhan paku tersebut toleran terhadap logam berat (Cu, Pb, Ni, Zn, Cd dan Cr) dan potensial sebagai *phytostabilizer* pada tanah yang terkontaminasi logam berat. Jenis tumbuhan lain yang toleran terhadap logam berat adalah tumbuhan dominan yang dapat tumbuh dengan baik di areal bekas tambang yang tercemar limbah logam berat dan berpotensi sebagai fitoremediator seperti *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., dan *Melastoma* sp. (Winarti dan Neneng, 2018). Tumbuhan-tumbuhan ini tidak hanya tumbuh di areal bekas tambang emas yang tercemar logam berat, namun juga banyak ditemukan tumbuh di tempat lain yang tidak tercemar. Resistensi dan kemampuan bertahan hidup di lingkungan tercemar yang dimiliki oleh tumbuhan-tumbuhan tersebut diduga merupakan suatu bentuk adaptasi genetik.

Aziz *et al.* (2008) mengemukakan adanya polimorfisme unik pada profil genetik tumbuhan bunga matahari yang diberi perlakuan logam Ni (*nickel*) yang tidak ditemukan pada perlakuan lain. Ekspresi gen-gen spesifik tertentu lebih tinggi pada tumbuhan fitoremediator dibandingkan dengan tumbuhan non-fitoremediator (Chiang *et al.*, 2006). Hal ini menunjukkan bahwa adanya gen yang bertanggung jawab atas kemampuan tumbuhan mentoleransi logam berat, seperti gen *pcs* (*phytochelatin synthase*) diekspresikan menjadi protein yang memediasi detoksifikasi logam (Clemens *et al.*, 1999). Penelitian yang dilakukan oleh Winarti dan Neneng (2018) menunjukkan bahwa profil genetik *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., dan *Melastoma* sp. yang tumbuh dominan di areal tambang (toleran terhadap logam berat) berbeda dengan tumbuhan sejenis yang hidup di habitat lain (tidak toleran), namun masih perlu diteliti lebih lanjut terkait profil genetik dari tumbuhan-tumbuhan tersebut.

Kelompok protein yang memiliki kemampuan untuk mengikat logam di antaranya adalah PCs (*phytochelatin*) dan metallothionein. PCs merupakan peptida yang disintesis secara enzimatis dari *glutathione*, sedangkan metallothionein merupakan produk yang dihasilkan langsung dari ekspresi gen (Koźmińska *et al.*, 2018). Metallothionein pada tumbuhan, secara umum, berperan dalam homeostasis logam-logam esensial (Se, Zn, Ni, dan Cu) dan dalam detoksifikasi logam *xenobiotic*, seperti Cd, Hg, dan Ag (Tripathi *et al.*, 2015). Penggunaan sekuens gen metallothionein (*mt-gene*) sebagai gen target untuk penelitian analisis profil genetik dengan desain primer yang sesuai memberikan kemungkinan keberhasilan yang lebih tinggi pada tahap amplifikasi dan visualisasi fragmen DNA yang akan dibandingkan antara tumbuhan fitoremediator dan non-fitoremediator. Hasil analisis profil genetik berupa temuan pita DNA yang bertanggung jawab atas kemampuan tumbuhan sebagai fitoremediator logam berat dapat diteliti lebih lanjut untuk menghasilkan GMC (*genetically modified crops*) atau tumbuhan transgenik dengan teknologi DNA rekombinan. Penelitian ini bertujuan untuk: (1) mengetahui jenis-jenis tumbuhan yang tumbuh dominan di areal bekas tambang emas; (2) menganalisis profil genetik tumbuhan fitoremediator logam berat dari areal bekas tambang emas; dan (3) mengetahui perbedaan profil genetik tumbuhan fitoremediator logam berat dari areal bekas tambang dan tumbuhan sejenis dari areal non-tambang.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Sampel tumbuhan untuk analisis profil genetik yang dipilih menggunakan teknik *purposive sampling* adalah *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., dan *Melastoma* sp. Pemilihan

ketiga spesies tumbuhan tersebut berdasarkan kemampuan tumbuh dengan baik dan dominan di areal bekas tambang emas yang terkontaminasi logam berat. Sampel tumbuhan dibagi menjadi dua kelompok, yakni tumbuhan fitoremediator logam berat dan tumbuhan non-fitoremediator logam berat (Tabel 1).

Tabel 1. Kode Sampel Tumbuhan

No.	Kode	Spesies	Habitat
1	CX	<i>Cyperus</i> sp.	Areal Bekas Tambang Emas
2	LX	<i>Lycopodium</i> sp.	Areal Bekas Tambang Emas
3	MX	<i>Melastoma</i> sp.	Areal Bekas Tambang Emas
4	CN	<i>Cyperus</i> sp.	Areal Non-Tambang
5	LN	<i>Lycopodium</i> sp.	Areal Non-Tambang
6	MN	<i>Melastoma</i> sp.	Areal Non-Tambang

Sampel tumbuhan fitoremediator logam berat diambil dari areal bekas tambang emas yang terkontaminasi logam berat merkuri (Hg) di Sepang Simin, Kabupaten Gunung Mas, Kalimantan Tengah. Sampel tumbuhan non-fitoremediator diambil dari areal non-tambang dengan karakteristik habitat yang sama, namun tanpa kontaminasi logam berat di Bukit Rawi, Kabupaten Pulang Pisau, Kalimantan Tengah, yang berjarak 65,58 km dari Sepang Simin (Gambar 1).

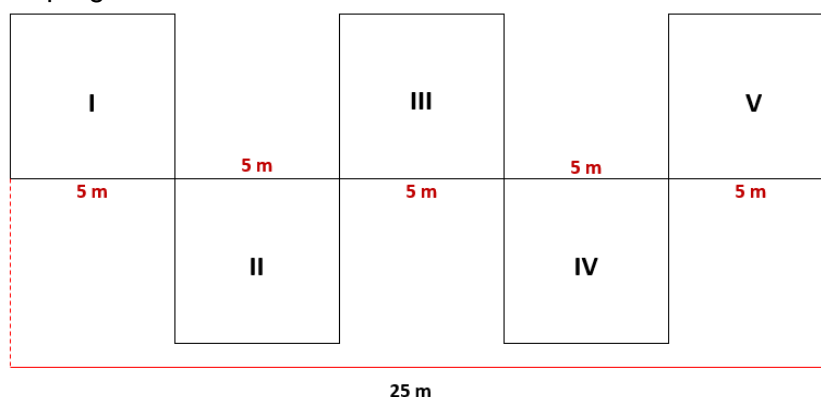


Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

2.2. Metode

Pengambilan data untuk analisis tumbuhan dominan dilakukan di areal bekas tambang emas Sepang Simin, Kabupaten Gunung Mas. Analisis tumbuhan dominan dilakukan dengan menghitung nilai indeks dominansi spesies (D_i) dari data yang dikumpulkan dengan metode *box plot*. Jumlah *box plot* yang digunakan adalah sebanyak 5 plot dengan ukuran 5 m² (Gambar 2). Indeks dominansi spesies dinyatakan dalam persentase (%) rasio antara nilai kelimpahan spesies (n_i , jumlah individu/m²) dan nilai total kelimpahan spesies (N). Status dominansi spesies diinterpretasikan berdasarkan kriteria dominansi menurut Torgersen *et.al.* (2006), yakni *dominant* (>50%),

codominant/common (10-50%), dan *rare* (<10%). Nilai indeks dominansi dianalisis menggunakan program *Microsoft Excel 2016*.



Gambar 2. *Box Plot*

Analisis profil genetik (isolasi, amplifikasi, dan visualisasi DNA) dilakukan di Laboratorium INBIO, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian dilakukan selama 3 (tiga) bulan, yakni pada bulan November 2019 – Januari 2020. Analisis profil genetik dilakukan sesuai dengan prosedur operasional standar di Laboratorium INBIO Universitas Brawijaya, Malang. Langkah-langkah analisis profil genetik terdiri dari isolasi DNA, Amplifikasi DNA, dan Visualisasi Fragmen DNA. Secara rinci dijelaskan sebagai berikut.

1) Gen Target dan Desain Primer

Sekuens gen target pada penelitian ini adalah gen Metallothionein (*mt*-gene). Metallothionein merupakan protein yang kaya akan sistein (*cysteine-rich protein*) yang memiliki kapabilitas untuk mengikat logam (Grennan, 2011). Pada penelitian ini menggunakan sekuens gen *mt* dari spesies yang berkerabat dengan sampel tumbuhan yang akan dianalisis profil genetiknya. Sekuens gen *mt* diunduh dari *website* resmi NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) secara rinci disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Sekuens Gen Metallothionein

No.	Sekuens Gen <i>mt</i>	Spesies
1	<p>Metallothionein-like Protein Type 2 (<i>Oryza sativa</i>) Location: Chromosome G6, NC_034014.1 (24811649..24812626)</p> <p>5'-ATGTCGTCGTGCTGTGGAGGCAAATGTGGTTGCGGGGCTGGCTGC AAGTGCAGCAGCGGCTGTGGAGGGTGCGGGATGTACCCTGATATT TCCATGGAACAGAGCACCAACTGAGACCCTTATAATGGGGGTT GCACCTCAAACCTCTCATTTTTGAGGCTTCTGAGATGGGTGTTGTT GCTGAGAATGGATGCAAGTGTGGAGACAAGTGCACCTGCAACCCC TGCAAGTGTGAAAGTGA-3'</p>	<i>Cyperus</i> sp.
2	<p>Metallothionein-like Protein 4B (<i>Selaginella moellendorffii</i>) Location: NW_003314264.1 (3112031..3112621)</p> <p>5'-TGGCACGCACTGAGGGATGTGGCTGCGCTACTCCATGCCCTTGCG GCGACGCTTGCAAGTGTGGGATGGACAAGGAGAAATCGTCCGCTC CAGGCGCTGAGACCTCATCATCGTTTTGCAGCTGCGGCGAGAAGT GCAGCTGCGACCCTTGCTCGTGCTCCAGGGTGAGCGCCTCGGGCG</p>	<i>Lycopodium</i> sp.

ACGGCTTCTGCAAGTGTGGCAGCGAGTGCAAGTGTGACAAGTGCT
 CCTGCGCCAAGTCGGTGGTGGCGACGGCGTGA-3'

- 3 Metallothionein-like Protein Type 2 (*Prunus persica*) *Melastoma* sp.
 Location: Chromosome G6, NC_034014.1 (24811649..24812626)

5'-ATGTCGTCGTGCTGTGGAGGCAAATGTGGTTGCGGGGCTGGCTGC
 AAGTGCGGCAGCGGCTGTGGAGGGTGCGGGATGTACCCTGATATT
 TCCATGGAACAGAGCACCACAACCTGAGACCCTTATAATGGGGGTT
 GCACCTCAAACCTCTCATTTTGAGGCTTCTGAGATGGGTGTTGTT
 GCTGAGAATGGATGCAAGTGTGGAGACAACCTGCACCTGCAACCCC
 TGCAAGTGTGGAAAGTGA-3'

Primer didesain secara *online* menggunakan Primer3Plus berdasarkan sekuens gen Metallothionein pada Tabel 2. Desain primer secara rinci disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Desain Primer Spesifik Gen Metallothionein

No.	Primer	Sekuens 5' – 3'	% G+C
1	Primer 1 <i>Cyperus</i> sp.	Forward CGGATGCAAGTACTCTGAGG	55,0 %
		Reverse AGTTGCAGTTGCAGCAGGAG	55,0 %
2	Primer 2 <i>Lycopodium</i> sp.	Forward AGTGTGGGATGGACAAGGAG	55,0 %
		Reverse GCAGGAGCACTTGTCACT	55,0 %
3	Primer 3 <i>Melastoma</i> sp.	Forward CTGTGGAGGCAAATGTGGTT	50,0 %
		Reverse CTTGCATCCATTCTCAGCAA	50,0 %

Primer universal OPA-04 digunakan pada analisis RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*) dengan sekuens yang disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Sekuen Primer Universal OPA-04

No.	Primer	Sekuens 5' – 3'	G+C Content (%)
1	OPA-04	AATCGGGCTG	60%

2) Isolasi, Amplifikasi dan Visualisasi DNA

Isolasi, amplifikasi, dan visualisasi DNA dilakukan di Laboratorium INBIO, Universitas Brawijaya, Malang. Isolasi DNA sampel menggunakan metode CTAB (*cetyltrimethylammonium bromide*). Amplifikasi DNA merupakan tahap perbanyakan fragmen DNA secara *in vitro* atau disebut juga sebagai *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Suhu yang digunakan pada saat amplifikasi di siklus PCR (*polymerase chain reaction*) adalah 91°C (*denaturation*), 42°C (*annealing*), dan 72°C (*elongation*). Larutan reaksi PCR untuk setiap sampel dibutuhkan sebanyak 10 µL dalam *microtube* 0,2 ml yang terdiri dari 2 µL ddH₂O; 5 µL PCR mix; 1 µL primer forward; 1 µL primer reverse; dan 1 µL sampel DNA. Proses PCR pada penelitian ini menggunakan *MiniPCR* yang dapat terkoneksi dengan perangkat komputer berbasis *Windows* atau *smartphone* berbasis Android.

Pemisahan fragmen dilakukan dengan teknik *gel electrophoresis* dan visualisasi dilakukan dengan *fluorescence* atau deteksi radioaktif. Hasil pemisahan dan visualisasi berupa pola pita DNA (*DNA banding patterns*) yang akan dianalisis untuk membandingkan profil genetik sampel penelitian. Marker DNA yang digunakan adalah *GeneOn* 1 kb.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil

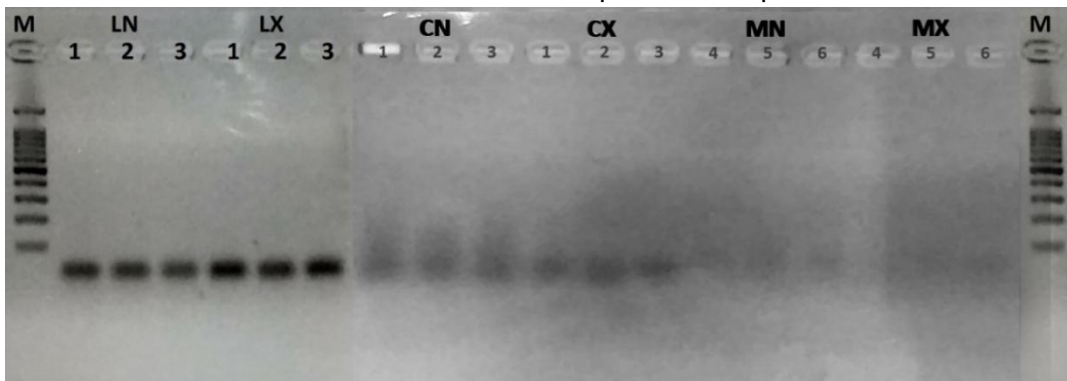
Tumbuhan dominan di areal bekas tambang emas dianalisis dengan menghitung indeks dominansi spesies (Di). Hasil analisis menunjukkan spesies tumbuhan dominan yang hidup di areal bekas tambang emas adalah *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., dan *Melastoma* sp. Hasil analisis indeks dominansi spesies (Di) secara rinci disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Analisis Indeks Dominansi Spesies

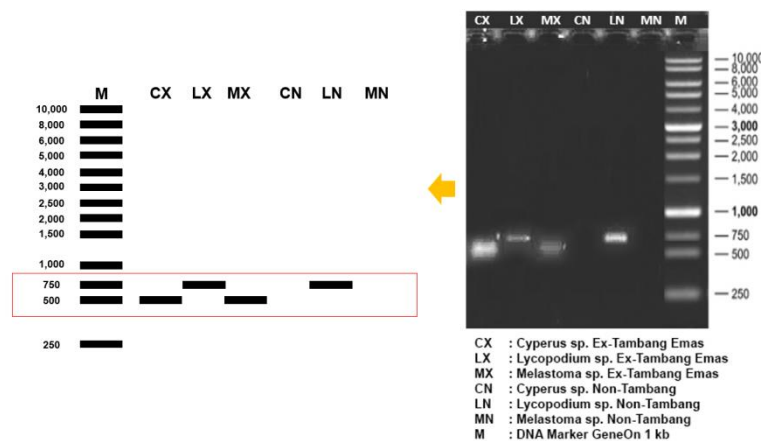
No.	Spesies	Jumlah Individu	ni (Jumlah Individu/m ²)	Di (%)	Kategori
1	<i>Cyperus</i> sp.	186	1,49	47,94	Codominant/Common (Umum)
2	<i>Lycopodium</i> sp.	95	0,76	24,48	Codominant/Common (Umum)
3	<i>Melastoma</i> sp.	87	0,70	22,42	Codominant/Common (Umum)
4	Spesies Lain (<i>Other Species</i>)	20	0,16	5,15	Rare (Jarang)
Total		388	3,10	100	

Visualisasi hasil amplifikasi menggunakan primer spesifik yang didesain berdasarkan gen Metallothionein (*mt-gene*) untuk melihat profil genetik tumbuhan fitoremediator logam berat. Suhu yang digunakan pada saat amplifikasi di siklus PCR (*polymerase chain reaction*) adalah 91°C (*denaturation*), 42°C (*annealing*), dan 72°C (*elongation*).

Hasil amplifikasi menggunakan primer spesifik gen Metallothionein (*MT-gene*) kemudian dielektroforesis untuk visualisasi seperti terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Elektroforesis Hasil Amplifikasi Menggunakan Primer Spesifik Perbedaan profil genetik tumbuhan fitoremediator logam berat dan tumbuhan non-fitoremediator dilihat berdasarkan analisis RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*) menggunakan primer universal OPA-04. Suhu yang digunakan pada saat amplifikasi di siklus PCR (*polymerase chain reaction*) adalah 91°C (*denaturation*), 42°C (*annealing*), dan 72°C (*elongation*). Hasil analisis RAPD secara rinci disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Analisis RAPD Menggunakan Primer Universal OPA-04

3.2. Pembahasan

Tumbuhan-tumbuhan yang hidup dominan di areal bekas tambang emas memiliki potensi sebagai fitoremediator logam berat di antaranya adalah *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., dan *Melastoma* sp. Tumbuhan-tumbuhan ini memiliki kemampuan untuk mengakumulasi kontaminan logam berat. Hasil penelitian Neneng (2009) menunjukkan distribusi frekuensi akumulasi logam berat merkuri (Hg) pada bagian akar dan daun *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., dan *Melastoma* sp. yang cukup tinggi. Rata-rata akumulasi merkuri sebesar 5,14 (daun) dan 2,45 (akar) pada *Cyperus* sp.; 3,19 (daun) dan 1,70 (akar) pada *Lycopodium* sp.; dan 4,17 ppm (daun) dan 1,53 (akar) pada *Melastoma* sp.

Hasil analisis profil genetik menggunakan primer spesifik untuk gen metallothionein (*mt-gene*) menunjukkan bahwa tidak adanya pita DNA spesifik pada semua sampel baik dari lokasi bekas tambang emas maupun lokasi non-tambang. Hal ini diduga karena tidak adanya sekuens gen yang homolog pada sampel uji dengan sekuens gen target yang digunakan. Protein yang disekresikan oleh ketiga spesies tumbuhan

fitoremediator logam berat tersebut memiliki karakteristik yang sama dengan metallothionein dalam hal mengikat logam berat, namun gen pengkode proteinnya diduga berbeda. Pengikatan logam (*chelation*) merupakan salah satu mekanisme potensial yang dilakukan oleh tumbuhan untuk mengatur toleransi logam di dalam sel dengan mempertahankan konsentrasi rendah logam bebas di dalam sitoplasma. Mekanisme ini melibatkan senyawa-senyawa *chelator*, yakni senyawa turunan thiol (GSH, *glutathione*, PCs, *phytochelatin*, MTs, *metallothionein*) dan senyawa-senyawa non-thiol, seperti histidine, nicotianamine, dan asam-asam organik (Anjum *et.al.*, 2015). Sanità Di Toppi *et.al.* (2002) juga menyebutkan beberapa protein pengikat logam pada tumbuhan (*metal chelator protein*) diantaranya adalah *phytochelatin*, *metallothionein*, *ferritin*, dan *nicotianamine*, yang dikode oleh gen-gen berbeda.

Penyebab lain diduga adalah primer yang digunakan tidak komplementer dengan *template* gen metallothionein (*mt-gene*). Desain primer harus memiliki keseimbangan antara spesifisitas dan efisiensi amplifikasi, (Syamsurizal, 2019). Spesifitas didefinisikan sebagai frekuensi terjadinya *mispriming*, ditandai dengan adanya *amplicon* yang tidak diharapkan yang muncul pada saat visualisasi dengan elektroforesis, dan efisiensi adalah kemampuan primer dapat mengamplifikasi gen target (Dieffenbach *et.al.*, 1993). Tidak adanya pita DNA yang muncul diduga karena adanya masalah pada efisiensi primer, sehingga tidak dapat mengamplifikasi gen target.

Analisis RAPD (*Random Amplification of Polymorphic DNA*) menggunakan primer universal OPA-04 menunjukkan bahwa adanya perbedaan pita DNA pada 500-750 bp yang muncul di antara profil genetik sampel tumbuhan fitoremediator dan non-fitoremediator. Hal ini serupa dengan hasil penelitian Aziz *et.al.* (2008) yang menunjukkan perbedaan profil genetik tumbuhan bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) yang diberi perlakuan kontaminan logam dengan kelompok kontrol tanpa perlakuan kontaminan logam. Hasil visualisasi menunjukkan adanya polimorfisme unik sekitar 600 bp pada profil genetik tumbuhan bunga matahari dengan perlakuan logam yang diamplifikasi menggunakan primer universal O10. Penelitian Babaoğlu *et al.* (2014) terkait analisis profil genetik tumbuhan hiperakumulator *Alyssum murale* dan *Alyssum corsicum* yang diberi perlakuan logam berat Ni (Nickel) dengan teknik RAPD-PCR juga menunjukkan bahwa DNA genom (*genomic DNA*) kedua spesies tumbuhan tersebut secara signifikan dipengaruhi oleh Ni (Nickel). Lebih lanjut Babaoğlu *et al.* (2014) menyebutkan polimorfisme unik secara signifikan muncul pada 600 bp, 700 bp, 800 bp dan 1200 bp dengan menggunakan 9 (sembilan) primer universal.

Pita DNA yang muncul pada profil genetik tumbuhan fitoremediator logam berat dari areal bekas tambang emas diduga merupakan representasi dari gen yang bertanggung jawab atas resistensi kontaminan logam berat. Gen-gen ini yang memunculkan fenotip (*traits*) resisten terhadap logam berat pada tumbuhan fitoremediator dengan menghasilkan protein pengikat logam untuk penyerapan dan translokasi logam berat yang akan diakumulasi. Mekanisme fitoekstraksi (*phytoextraction*) dan fitovolatilisasi (*phytovolatilization*) membutuhkan senyawa yang mampu untuk mengikat logam berat atau memiliki afinitas terhadap logam berat dan kemudian ditranslokasikan ke bagian tumbuhan lain. Senyawa ini biasanya berupa protein, seperti PCs (*phytochelatin*) dan metallothionein. PCs merupakan peptida yang disintesis secara enzimatik dari *glutathione*, sedangkan metallothionein merupakan produk yang dihasilkan langsung dari ekspresi gen (Kozmińska *et.al.*, 2018). Metallothionein pada tumbuhan, secara

umum, berperan dalam homeostasis logam-logam esensial (Se, Zn, Ni, dan Cu) dan dalam detoksifikasi logam *xenobiotic*, seperti Cd, Hg, dan Ag (Tripathi *et.al.*, 2015). Banyak penelitian yang menunjukkan kemampuan mengikat logam pada senyawa organik, seperti protein metallothionein dan PCs (*phytochelatin*). Peningkatan ekspresi gen-gen pengkode protein ini berkaitan dengan toleransi tumbuhan dengan lingkungan yang terkontaminasi logam berat (Lopez-Bucio *et.al.*, 2000). Gen-gen ini selanjutnya dapat dimanipulasi untuk meningkatkan proses fitoremediasi melalui teknologi DNA rekombinan pada tumbuhan transgenik atau GMC (*genetically modified crops*) yang resisten terhadap kontaminan logam berat. Kim *et.al.* (2005) melakukan penelitian mengenai *Arabidopsis* transgenik yang disisipkan gen HvNAS1 dari *Hordeum vulgare*. Gen ini mengkode *nicotianamine synthase*, enzim yang mengkatalis trimerisasi *S-adenosyl methionine* menjadi *nicotianamine* yang mampu mengikat logam.

4. Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa spesies tumbuhan yang dominan tumbuh di areal bekas tambang emas adalah *Cyperus* sp., *Lycopodium* sp., dan *Melastoma* sp. Analisis profil genetik tumbuhan dominan di areal bekas tambang emas yang merupakan fitoremediator logam berat tidak menunjukkan adanya pita DNA gen target, yakni gen metallothionein (*mt-gene*), yang diamplifikasi menggunakan primer spesifik. Pada hasil analisis dengan RAPD menggunakan primer universal OPA-04 menunjukkan bahwa ada perbedaan pita DNA berukuran 500-750 bp yang muncul di antara sampel tumbuhan fitoremediator dan non-fitoremediator. Pita DNA yang muncul pada profil genetik tumbuhan fitoremediator logam berat dari areal bekas tambang emas diduga merupakan representasi dari gen yang bertanggung jawab atas resistensi kontaminan logam berat.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Ibu Dr. Liswara Neneng, M.Si. dan Bapak Dr. Yohanes Edy Gunawan, M.Si. sebagai pembimbing; dan Laboratorium INBIO Universitas Brawijaya, Malang, yang telah membantu dalam proses analisis profil genetik sebagai data hasil penelitian.

Daftar Pustaka

- Anjum, N.A., Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A., Thangavel, P., Roychoudhury, A., Gill, S.S., Merlos Rodrigo, M.A., Adam, V., Fujita, M., Kizek, R., Duarte, A.C., Pereira, E., and Ahmad, I. 2015. Jaks of Metal/Metalloid Chelation Trade in Plants—an Overview. *Frontiers in Plant Science* 6(APR): 1–17.
- Aziz, A.A., Mabrouk, Y.M., Essa, E.M., El-Metainy, A.Y., Abou-Youssef, A.Y. 2008. Genetic Aspects of Heavy Metals Phytoremediation Abilities of Sunflower Plants. *Egypt. J. Genet. Cytol.* 37(January 2008): 103–14.
- Babaoğlu, Selcen, Leyla Açık, Nezaket Adigüzel, and Şebnem Ellialtıoğlu. 2014. RAPD-PCR Analysis of Hyperaccumulator Plants *A. corsicum* and *A. murale* Induced by Ni Treatment. (June): 1–9.
- Chiang, Huai-Chih, Jing-Chi Lo, and Kuo-Chen Yeh. 2006. enes Associated with Heavy Metal Tolerance and Accumulation in Zn/Cd Hyperaccumulator *Arabidopsis* Halleri: A Genomic Survey with CDNA Microarray. *Environmental Science & Technology* 40(21): 6792–98. <https://doi.org/10.1021/es061432y>.

- Chibuike, G. U., and S. C. Obiora. 2014. Heavy Metal Polluted Soils: Effect on Plants and Bioremediation Methods. *Applied and Environmental Soil Science* 2014: 1–12.
- Clemens, Stephan, Eugene J. Kim, Dieter Neumann, and Julian I. Schroeder. 1999. Tolerance to Toxic Metals by a Gene Family of Phytochelatase Synthases from Plants and Yeast. *EMBO Journal* 18(12): 3325–33.
- Dieffenbach, C. W., T. M.J. Lowe, and G. S. Dveksler. 1993. General Concepts for PCR Primer Design. *Genome Research* 3(3): 30–37.
- Kachenko, Anthony G., Balwant Singh, and Naveen P. Bhatia. 2007. Heavy Metal Tolerance in Common Fern Species. *Australian Journal of Botany* 300(1): 207–19.
- Kim, S., Takahashi, M., Higuchi, K., Tsunoda, K., Nakanishi, H., Yoshimura, E., and Nishizawa, N.K. 2005. Increased Nicotianamine Biosynthesis Confers Enhanced Tolerance of High Levels of Metals, in Particular Nickel, to Plants. *Plant Cell Physiology* 46(11): 1809–18.
- Koźmińska, Aleksandra, Alina Wiszniewska, Ewa Hanus-Fajerska, and Ewa Muszyńska. 2018. Recent Strategies of Increasing Metal Tolerance and Phytoremediation Potential Using Genetic Transformation of Plants. *Plant Biotechnology Reports* 12(1): 1–14. <http://dx.doi.org/10.1007/s11816-017-0467-2>.
- Lopez-Bucio, J, MF Nieto-Jacobo, V Ramirez-Rodriguez, and L HerreraEstrella. 2000. Organic Acid Metabolism in Plants: From Adaptive Physiology to Transgenic Varieties for Cultivation in Extreme Soils. *Plant Sci* 160(1): 1–13.
- Neneng, Liswara. 2009. Aplikasi Konsorsium Mikroorganisme dan Tumbuhan Fitoremediator Merkuri (Hg) untuk Reklamasi Lahan Pasca Penambangan Emas di Kalimantan Tengah. Laporan Akhir Penelitian Hibah Stranas DIKTI.
- Sanità Di Toppi, L., M. N. V. Prasad, and S. Ottonello. 2002. Metal Chelating Peptides and Proteins in Plants. In *Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants*, Springer, Dordrecht, 59–93.
- Syamsurizal, S., Handayani, D., Kadri, H., & Badriyya, E. (2019). Genotyping SNP rs7903146 TCF7L2 gene for detection T2DM in Indonesian melayu ethnic. *Journal of Physics: Conference Series*, 1317(1), 12090. IOP Publishing.
- Torgersen, Christian E., Colden V. Baxter, Hiram W. Li, and Bruce A. McIntosh. 2006. Landscape Influences on Longitudinal Patterns of River Fishes: Spatially Continuous Analysis of Fish-Habitat Relationships. *American Fisheries Society Symposium* 2006(48): 473–92.
- Tripathi, P., Singh, P.K., Mishra, S., Gautam, N., Dwivedi, S., Chakrabarty, D., and Tripathi, R.D. 2015. Recent Advances in the Expression and Regulation of Plant Metallothioneins for Metal Homeostasis and Tolerance In: *Environmental Waste Management*. CRC Press, Boca Raton: 551–64.
- Winarti, Sih., dan Neneng, Liswara. 2018. Analisis Profil Genetik Tumbuhan Fitoremediator Logam Berat dari Areal Bekas Tambang Emas di Kabupaten Gunung Mas. Laporan Akhir Penelitian PNPB UPR 2018