UMM

PSLK

PROSIDING

UMM
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

PSLK
PUSAT STUDI LINGKUNGAN DAN KEPENDUDUKAN

SEMINAR NASIONAL II 2016
BIOLOGI, PEMBELAJARAN, DAN LINGKUNGAN HIDUP
PERSPEKTIF INTERDISIPLINER

PROSIDING

SEMINAR NASIONAL II 2016

BIOLOGI, PEMBELAJARAN, DAN LINGKUNGAN HIDUP
PERSPEKTIF INTERDISIPLINER

Penyunting:
Dr. Abdulkadir Rahardjanto, M.Si.,
Dr. Nurul Mahmudati, M.Kes.,
Dr. Yuni Pantiwati, M.M., M.Pd.,
Dr. Lud Waluyo, M.Kes.,
Dr. Rr. Eko Susetyarini, M.Si.,
Dr. Ainur Rofieq, M.Kes.,
Dr. Poncojari Wahyono, M.Kes.,
Dr. Iin Hindun, M.Kes

ISBN: 978-979-796-179-4
9 789797 961794

UMM PRESS

Kritik dan saran mengenai buku ini via email:ummpress@gmail.com

UMM PRESS

PRODI PENDIDIKAN BIOLOGI FKIP UMM
Bekerjasama dengan
PUSAT STUDI LINGKUNGAN DAN KEPENDUDUKAN (PSLK)
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG

Prosiding

Hak Cipta @ Prodi Pendidikan Biologi Bekerja-sama dengan
Pusat Studi Lingkungan dan Kependudukan (PSLK)
UniversitasMuhammadiyah Malang. 2016
Hak Terbit pada UMM Press

Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang
Jl. Raya Tlogomas No. 246 Malang 65144
Telepon (0341) 464318 Psw. 140,
Fax. (0341) 460435
E-mail: ummpress@gmail.com
http://ummpress.umm.ac.id
Anggota APPTI (Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia)

Cetakan Pertama, Juni 2016

ISBN : 979-979-796-179-4

xxiv, 1228 hlm; 21 cm x 29,7 cm

Setting Layout : Fendi
Design Cover : Andi
Penyunting : Dr. Abdulkadir Rahardjanto, M.Si., Dr. Nurul Mahmudati, M.Kes., Dr. Yuni Pantiwati, M.M., M.Pd., Dr. Lud Waluyo, M.Kes., Dr. Rr. Eko Susetyarini, M.Si., Dr. Ainur Rofieq, M.Kes., Dr. Poncojari Wahyono, M.Kes., dan Dr. Iin Hindun, M.Kes

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun, termasuk fotokopi, tanpa izin tertulis dari penerbit. Pengutipan harap menyebutkan sumbernya.

PANITIA SEMINAR NASIONAL II

BIOLOGI, PEMBELAJARAN, DAN LINGKUNGAN HIDUP PERSPEKTIF INTERDISIPLINER

(Kerjasama Prodi Pendidikan Biologi FKIP dengan PSLK UMM)

Pelindung	: 1. Prof. Dr. Syamsul Arifin, M.Si	(Wakil Rektor I)
	2. Dr. Poncojari Wahyono, M.Kes.	(Dekan FKIP)
Penasihat	: 1. Prof. Dr. Ir. Sujono, M.Kes.	(Direktur DP2M UMM)
	2. Dr. Trisakti Handayani, MM.	(PD I FKIP)
	3. Drs. MarhanTaufik, M.Si.	(PD II FKIP)
	4. Dr. Hari Sunaryo, M.Si.	(PD III FKIP)
Penanggung Jawab	: 1. Dr. Yuni Pantiwati, MM.,M.Pd.	(Ketua Prodi Pendidikan Biologi)
	2. Husamah, S.Pd.,M.Pd.	(Kepala PSLK UMM)
Ketua	: Dr. Moch. Agus Krisno Budiyanto, M.Kes.	(Pendidikan Biologi)
Wakil	: Dr. Suwarsono, MT	(PSLK)
Bendahara	: Dr. Rr. Eko Susetyarini, M.Si.	(Sekjur Pendidikan Biologi)
	Dra. Elly Purwanti, M.P.	(Pendidikan Biologi& PSLK)

Seksi-Seksi:

1. Kesekretariatan	: 1. Mahar Faiqurahman, S.Kom., M.Kom	(Co; PSLK)
	2. Dra. Roimi lLatifa, M.Si., MM.	(Pendidikan Biologi)
	3. Fuad Jaya Miharja, S.Pd.,M.Pd.	(Pendidikan Biologi; PSLK)
	4. Diani Fatmawati, S.Pd.,M.Pd	(Pendidikan Biologi)
	5. Fendy Hardian Permana, S.P., M.Pd	(Pendidikan Biologi)
2. Acara Utama	: 1. Drs. Atok Miftachul Hudha, M.Pd.	(Co: Pend. Biologi; PSLK)
	2. Drs. Nurwidodo, M.Kes.	(Pendidikan Biologi; PSLK)
	3. Tri MujiIngarianti, S. Psi, M.Psi	(PSLK)
	4. Gina Harventy, SE.,Ak., M.Si., CA	(PSLK)
3. Presentasi Paralel	: 1. Dr. Sukarsono, M.Si	(Co: Pendidikan Biologi)
	2. Shanty Kusuma Dewi, ST, MT	(PSLK)
	3. Hevi Kurnia Hardini, S.IP., MA. Gov	(PSLK)
	4. Ganjar Adhy Wirawan.s., S.Pi., MP.	(PSLK)
	5. Nina Inayati, S.Pd., M.Ed.	(PSLK)

4. Editor Naskah dan Materi (Pelaksana):

1. Dr. Ainur Rofieq, M.Kes.	(Co. Pendidikan Biologi)
2. Dra. Lise Chamisijatin, M.Pd	(Pendidikan Biologi)
3. Dr. Fatimah Nursandi, M.Si.	(PSLK)
4. Dr. Abdulkadir Rahardjanto, M.Si.	(Pendidikan Biologi)
5. Dr. Lud Waluyo, M.Kes.	(Pendidikan Biologi)

	6. Sri Sunaringsih Ika W., SKM, M.PH	(PSLK)
	7. Edi Purwanto, A.Md.K, S.Kep, Ns.,MNg	(PSLK)
	8. Fendy Hardian Permana, S.Pd., M.Pd	(Pendidikan Biologi)
5. Humas/Publikasi	: 1. Adityo, SS, M.Ed.	(Co. PSLK)
	2. Alfiani Athma Putri R., S.Pd., M.Pd	(PSLK)
	3. Drs. Muizzudin, M.Kes.	(Pendidikan Biologi)
	4. Zainul Anwar, S.Psi, M.Psi	(PSLK)
	5. Novita Ratna Satiti, SE, MM	(PSLK)
6. Perlengkapan	: 1. Drs. Wahyu Prihanta, M.Kes.	(Co. Pendidikan Biologi)
	2. Thomy Eko Saputro, ST., M.Sc	(PSLK)
	3. Yana Syafriyana, SIP, M.I.P	(PSLK)
	4. Arif Setiawan, S.Pd.,M.Pd.	(PSLK)
	5. Dwi Setyawan, M.Pd	(Pendidikan Biologi)
7. Bazar, Poster & Dekorasi,:		
	1. Dra. Sri Wahyuni, M.Kes.	(Co. Pendidikan Biologi)
	2. Dr. Nurul Mahmudati, M.Kes	(Pendidikan Biologi)
	3. Tatag Mutaqin, S.Hut, M.Si.	(PSLK)
	4. Drs. Samsun Hadi, M.S.	(Pendidikan Biologi)
	5. Bustanol Arifin, S.Pd.,M.Pd.	(PSLK)
8. Konsumsi	: 1. Dra. Siti Zaenab, M.Kes.	(Co. Pendidikan Biologi)
	2. Idaul Husanah, S.Ag., M.H.I	(PSLK)
	3. Dra. Iin Hindun, M.Kes.	(Pendidikan Biologi)
	4. Cholidah. S.H, M.H	(PSLK)
9. Dokumentasi & Pembantu Umum:		
	1. Miftakhul Jannah, S.Pd.	(Staff PSLK)
	2. Indah Sulistyaningrum, S.Pd.	(Staff Pendidikan Biologi)
	3. Partimer	(PSLK & Pend.Biologi)
	4. Tim HIMABIO	

METODE UNTUK MENENTUKAN JENIS FAKTOR TRANSKRIPSI (FT) PADA GEN PENYANDI ENZIM β-AMYRIN SYNTHASE BERBASIS KAJIAN IN SILICO: STUDI KASUS PADA TANAMAN MODEL

Method For Determining Transcription Factors (TFs) Of Gene β-AMYRIN Synthase Encoded Using In Silico Approach: A Case Study In Plant Model

***Agus Muji Santoso[12], Mohamad Amin[1], Sutiman B. Sumitro[3], Betty Lukiaty[1]**
[1] Biology Education, Malang State University, Indonesia
[2] Biology Education, University of Nusantara PGRI Kediri, Indonesia
[3] Biology Department, Brawijaya University, Malang, Indonesia
* Corresponding author (email: agusmujisantoso@unpkediri.ac.id)

Abstrak

Saponin termasuk senyawa obat yang dikendalikan produksinya oleh beberapa gen kunci, termasuk gen β-AS. Salah satu tahapan penting yang dapat dilakukan dalam rekayasa hayati untuk memacu produksi saponin tanaman adalah menentukan jenis FT pada gen kunci. Metode in vitro dan in vivo tidak dapat digunakan secara langsung untuk menentukan jenis FT yang mengendalikan gen target karena tidak efisien dan efektif. Oleh karena itu, penentuan awal jenis FT berbasis kajian in silico perlu dilakukan. Makalah ini bertujuan mendeskripsikan beberapa tahapan yang dapat dilakukan untuk menentukan jenis FT gen β-AS. Penelitian ini berjenis studi kasus hasil eksploasi data base tanaman model *A. thaliana*. Penelitian ini mengungkapkan ada 4 tahapan utama yaitu menentukan sekuen gen β-AS dan arah transkripsinya, menentukan sekuen promotor dari sekuen *CDS*, menelusur jenis FT dengan program *tfbind* dan menentukan FT dengan nilai interaksi tertinggi, memetakan FT terpilih dengan data base pada *PlantFTDB*. Jenis FT yang diperoleh dapat digunakan sebagai dasar untuk menentukan metode dan teknik laboratorium untuk kepentingan selanjutnya.

Kata kunci: faktor transkripsi, beta amyrin synthase, in silico.

Abstract

Saponins is one of medical compound which synthesized by several key genes in plants, including β-AS. Fisrt step to enhance of plant secondary metabolites was by determining of TFs which controlled target genes. in vitro and in vivo approach cannot be used directly to determine the kinds of the TFs which controls the target gene because both of approach above were inefficient and ineffective. Therefore, the initial determination of the type TFs-based in silico studies need to be done. This paper was aims to describe the steps that can be done to determine the type of the TFs gene β-AS in A. thaliana as a model plant using in silico approach. This study reveals that there were four main stages i.e. determining β-AS gene sequence and direction of transcription, determine the sequence of the promoter from start CDS, determine of TFs by using *tfbind* and look for the FTs which have highest interaction score, mapping of selected TFs by using *PlantFTDB*. The kinds of acquired TFs can be used as a information base to determine of the next method and laboratories technique.

Key words: transcription factor, beta amyrin synthase, in silico.

PENDAHULUAN

Faktor transkripsi memiliki peran penting dalam proses transkripsi gen target (Irawan, 2012). Faktor transkripsi dapat berinteraksi dengan sekuen promotor gen target dengan cara melekat pada sekuen dengan pola tertentu (Reddy *et al.*, 2010) dengan

mengenali pola sekuen promotor (Huang *et al*., 2012). Contohnya, *GATA* cenderung berinteraksi dengan sekuen promotor yang memiliki pola sekuen TGATAAGAAA. Selain itu, *GATA* juga dapat mengenali sekuen promotor yang berpola GTGATAAGA (Santoso *et al.*, 2016). Pola unik sekuen promotor dapat dikenali secara spesifik pula oleh faktor transkripsi. Adanya interaksi antara beberapa jenis faktor transkripsi secara bersamaan pada sekuen promotor gen target menyebabkan RNA polimerase menempel dan melalukan kerjanya.

Beberapa penelitian bidang rekayasa hayati telah membuktikan bahwa informasi berupa jenis faktor transkripsi yang terlibat dalam transkripsi gen target perlu diungkap. Kim dan Kim (2006) melaporkan bahwa faktor transkripsi *At-NIG1* merupakan faktor transkripsi kunci yang terlibat dalam respon toleran cekaman salinitas tinggi pada tanaman. Luo *et al*. (2011) juga melaporkan bahwa terdapat lebih dari 17 jenis faktor transkripsi yang terlibat dalam biosintesis saponin pada *Panax notoginseng*. Namun, jenis *MYB* merupakan faktor transkripsi yang paling berperan dalam roses biosintesis saponin tersebut. Penelitian serupa juga diungkapkan oleh Nasrollahi *et al.* (2014) bahwa biosintesis saponin ada tanaman *Glycyrrhiza glabra* dikendalikan oleh beberapa gen kunci dan jenis-jenis faktor transkripsi tertentu. Oleh karena itu, dalam bidang rekayasa hayati tanaman penentuan jenis faktor transkripsi penting dilakukan.

Eksplorasi jenis faktor transkripsi secara langsung dengan pendekatan in vitro maupun in vivo sangat sulit dilakukan. Khususnya bagi tanaman-tanaman/ organisme lainnya yang belum memiliki informasi data genomik, proteomik, dan transkriptomik yang lengkap dari penelitian sebelumnya. Selain itu, menurut Santoso *et al.* (2016) apabila pendekatan in vitro maupun in vivo dilakukan secara langsung akan bersifat kurang efektif dan efisien. Optimasi metode isolasi akan memerluakan bahan-bahan kimia yang lebih banyak, waktu dan tenaga yang lebih besar pula. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan lain yang bersifat prediktif untuk mengetahui jenis faktor transkripsi suatu gen target.

Pada konteks ini kajian in silico dapat dilakukan sebagai kajian awal karena bersifat prediktif (Palson, 2000), walaupun kajian in silico juga dapat berperan sebagai pendukung temuan karena bersifat pemodelan kasus interaksi antar molekul (Lerman *et al*., 2012). Kajian awal untuk memprediksi jenis faktor transkripsi yang bertanggung jawab terhadap proses transkripsi gen target. Kajian in silico bekerja berdasarkan prinsip matematika komputasi. Kajian in silico dapat memberikan beberapa alternatif kepada peneliti agar dapat fokus pada aspek-aspek yang akan dikerjakan pada penelitian di laboratorium. Melalui kajian in silico tersebut, dapat membantu peneliti agar tahapan penelitian dapat berlangsung secara lebih efektif dan efisien.

Penggunaan tanaman model *Arabidopsis thaliana* pada penelitian ini didasarkan pada pertimbangan ketersediaan data base. Tanaman model tersebut telah berhasil keketahui data base *whole genom*-nya. Termasuk data base gen yang tertanggung jawab pada biosintesis saponin. Eksplorasi metode untuk menentukan jenis faktor transkripsi gen yang bertangung jawab dalam biosintesis saponin secara in silico dengan menggunakan tanaman model diharapkan dapat memberikan informasi teknis dalam penelitian serupa. Khususnya penelitian yang bertujuan untuk memacu produksi senyawa saponin dari tanaman lokal/ endemik yang belum diketahui atau belum tersedia data basenya baik genomik, proteomik, dan transkriptomik.

Oleh karena itu, identifikasi faktor transkripsi berbasis kajian in silico untuk kepentingan rekayasa hayati khususnya untuk memacu kerja beberapa gen kunci yang terlibat dalam sebuah metabolisme perlu diungkap untuk kebutuhan analisis selanjutnya. Sampai saat ini,

METODE PENELITIAN

Makalah ini memuat deskripsi tahapan atau prosedur kerja dari metode yang dapat digunakan untuk menentukan jenis faktor transkripsi suatu gen. Pada makalah ini fokus pada faktor transkripsi gen β-AS pada tanama model *A. thaliana*. Oleh karena itu, metode penelitian yang digunakan adalah studi kasus dengan pendekatan deskriptif kualitatif. Informasi berupa tahapan kerja dari sebuah metode dideskripsikan berdasarkan hasil temuan selama melakukan analisis penentuan jenis faktor transkripsi gen β-AS. Tahapan kerja dideskripsikan dan diperjelas dengan beberapa gambar pendukung untuk memandu pembaca memahami maksud tahapan kerja tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ada empat tahapan kerja yang dapat digunakan untuk menentukan jenis faktor transkripsi gen target. Keempat tahapan kerja tersebut yaitu menentukan sekuen gen target, menentukan sekuen promotor gen, menelusur jenis faktor transkripsi, dan menentukan faktor transkripsi berdasarkan beberapa kriteria. Adapun deskripsi keempat tahapan kerja tersebut adalah sebagai berikut

1. Menentukan sekuen gen target.

   Pada tahap ini, sekuen gen target harus ditentutkan dengan benar. Untuk memastikan bahwa gen target yang kita tentukan telah benar maka diperlukan studi pustaka dari hasil penelitian terdahulu. Setelah nama dan *Identity Gene* (ID *gene*) telah diketahui, tahapa berikutnya adalah membuka laman data base yang menyediakan infromasi genom tanaman yang kita tuju. Misalnya kita buka laman NCBI dengan mengetikkan alamat berikut http://www.ncbi.nlm.nih.gov pada mesin pencari (*search engine*). Lalu kita pilih kategori pencarian *gene* dan ID *gene* atau nama gen target kita masukkan, sehingga nampak pada Gambar 1 berikut.

Gambar 1. Tampilan laman NCBI

Kemudian, kita pilih salah satu spesies (tanaman model *A. thaliana*) yang memiliki sekuen gen target yaitu β-AS seperti pada gambar berikut ini.

Gambar 2. Tampilan laman NCBI setalah ditentukan nama gen/ ID-nya

2. Menentukan sekuen promotor gen target
   Setelah salah satu organisme dipilih yaitu tanaman yang memiliki sekuen gen target, akan diperoleh tampilan laman sebagai berikut

Gambar 3. Tampilan laman NCBI yang memuat nama gen, lokasi gen pada kromosom, kode gen, sumber informasi data base

Tampilan yang muncul pada layar komputer adalah kode gen, nama gen, nama ilmiah tanaman yang memiliki sekuen gen tersebut, sumber data base, tipe gen, dan beberapa informasi dasar lainnya tentang gen target. Tahap selanjutnya adalah mencari sekuen promotor dengan cara mengeklik satu kali *primary source* pada tampilan laman tersebut. setelah itu, akan diperoleh tampilan laman sebagai berikut.

Gambar 4. Tampilan laman NCBI yang terhubung dengan laman *TAIR*

Berdasarkan Gambar 4, diperoleh informasi bahwa sekuen gen target β-AS memiliki profil sekuen yang terdiri dari intro, ekson, *coding region*, dan promotor. Sekuen promotor gen target dapat kita ketahui dengan mengklik kode tautan yang sejajar dengan baris tulisan promotor. Setalh itu, akan diperoleh sekuen promotor gen target yang diharapkan. Adapun tampilan laman yang akan diperoleh tervisualisasi pada Gambar 5. Pada gambar tersebut akan diperoleh informasi sekuen promotor gen yang berjumlah dua sekuen yaitu *flank* 1 dan 2.

Gambar 5. Tampilan laman *TAIR* yang memuat sekuen promotor yaitu *flank* 1 dan 2

3. Menelusur jenis faktor transkripsi dari sekuen promotor gen target

   Pada tahap ini sekuen promotor yang diperoleh pada tahap sebelumnya dapat disimpan dalam bentuk *notepad* atau dapat langsung disalin untuk digunakan. Tahap ini dimulai dengan membuka laman program *tfbind* secara *on line*. Adapun teknisnya dengan mengetikkan *tfbind* pada *search engine*, sehingga akan diperoleh tampilan sebagai berikut.

Gambar 6. Tampilan program *tfbind* yang dilakukan secara on line

Setelah mendapatkan tampilan program tersebut, masukkan sekuen promotor yang telah diperoleh dalam bentuk *fasta*. Bentuk format ini dapat langsung dibuat pada kotak program *tfbind* yang telah tersedia. Teknisnya dengan mengetikkan tanda > (spasi) lalu ketik nama file/ tugas. Contohnya: > coba1 . Kemudian *enter* satu kali baru diketikkan salinan sekuen promotornya. Tahap berikutnya meng-klik kata *submit*. Sehingga akan diperoleh tampilan sebagai mana tersaji pada Gambar 7.

Gambar 7. Tampilan o*ut put* program *tfbind*

4. Memetakan jenis faktor transkripsi dengan data base lainnya.

   Setelah diperoleh tampilan program seperti Gambar 7 tersebut, tahap selanjutnya adalah merekapitulasi dan melakukan pemeringkatan jenis faktor transkripsi yang memilki nilai/ *score* interaksi dengan sekuen promotor. Misalnya *GATA*, *SRY*, *MYB*, *OCT*, *GATA3*, *EVI* dengan nilai secara berurutan 0,9556; 0,9501; 0,8831; 0,8114; 0,8103; dan 0,7206. Selian itu, juga dapat dipetakan kembali apakah data faktor transkripsi yang telah diperoleh sudah sesuai dengan data base lainnya, misal apakah faktor trankripsi *GATA dan SRY* juga dapat mengkode biosintesis saponin atau tidak. Selain itu, juga dapat ditinjau dari aspek lainnya.

PENUTUP

Berdasarkan urian di atas dapat disimpulkan bahwa metode untuk menentukan jenis faktor transkripsi gen pada sebuah tanaman model terdiri dari empat tahap. Keempat tahapan kerja tersebut yaitu menentukan sekuen gen β-AS dan arah transkripsinya, menentukan sekuen promotor dari sekuen *CDS*, menelusur jenis FT dengan program *tfbind* dan menentukan FT dengan nilai interaksi tertinggi, memetakan FT terpilih dengan data base pada *PlantFTDB*. Pendekatan in silico tersebut dapat digunakan untuk kepentingan analisis laboratorium berikutnya.

DAFTAR PUSTAKA

Finkler A, Padan RA, Fromm H. 2007. CAMTAs: Calmodulin-binding Transkription Activators form Plants to Human. *FEBS Letters.* 581: 3893-3898.

Irawan B. 2012. *Genetika Molekuler*. Surabaya: Airlangga University Press.

Kuch S, Ahmadinejad N, panstruga R, Kuhn H. 2014. In Silico Analysis of The Core Signaling Proteome from The Barley Powdery Mildew Pathogen (*Blumeria graminis* f.sp. hordei). *BMC Geneomics*. 15: 1-15.

Lerman JA, Hayduke DR, Hatif H, Portnoy VA, Lewis NE, Orth JD, Schrimpe-Rutlege AC, Smith RD, Adkins JN, Zengler K, Palsson BO. 2012. In Silico Method for Modeling Metabolism and Gene Product Expression at Genome Scale. *Nature Comunication.* May 2012: 1-10.

Lindvall, J., Blomberg, K.E.M., dan Smith, C.I.E. 2003. In Silico Tools for Signal Transduction Research. *Briefing in Bioinformatics.* 4 (4): 315 – 324.

Luo H, Sun C, Sun Y, Wu Q, Li Y, Song J, Niu Y, Cheng X, Xu h, li C, Liu j, Steinmetz A, Chen S. 2011. Analysis of The Transcriptome of *Panax notoginseng* Root Uncovers Putative Triterpene Saponin-Biosynthesis Genes and Genetic Markers. *BMC Genomics*. 12: 1-15.

Huang GT, Ma Sl, Bai LP, Zhang L, Ma H, Jia P, Liu J, Zhong M, Guo ZF. 2012. Signal Transduction during Cold, Salt, and Drought Stresses. *Mol Bio Rep.* 39: 969-987

Nasrollahi V, Mirzaie-asl A, Piri K, Nazeri S, Mehrabi R. 2014. The Effect of Drought Stress on The Expression of Key Genes Involved in The Biosynthesis of Triterpenoid Saponins in Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*). *Phytochemistry*: 103: 32-37.

Palson, B. 2000. The Challenges on In Silico Biology: Moving from a Reductionist paradigm to one that Views Cells as a System will Necessitate Changes in Both the Culture and the Practice of Research. *Nature Biology.* 18: 1147 – 1150.

Reddy ASN, Ali GS, Celesnik H, Day IS. 2011. Coping Stresses: Roles of Calcium-and Calckium/Calmodulin-Regulated Gene Expression. *The Plant Cell.* 23: 2010-2032.

Santoso AM. Amin M, Sumitro SB, Lukiati B. 2016. *Identifikasi Ragam Faktor Transkripsi Gen β-AS yang Terlibat dalam Biosintesis Saponin*. Prosiding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajaran di Universitas Negeri Surabaya, 29 Februari 2016